Aus der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie
in München.
Vorstand: Professor Dr. B. B l e y e r

Über das Auftreten dunkler Leberzellen unter experimenteller Beeinflussung der Leberfunktion.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfasst und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt
von
Kurt W. Roeckl
aus München.
1939

Berichterstatter: Professor Dr. A. D a b e l o w

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus
„Zeitschrift für mikroskopisch-anatomische Forschung". 44, 563—605. 1939.
Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. in Leipzig.

Aus der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in München.
Vorstand: Prof. Dr. B. Bleyer.

Über das Auftreten dunkler Leberzellen unter experimenteller Beeinflussung der Leberfunktion.

Von

F. Fischler und **K. W. Roeckl.**

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Dezember 1938.)

A. Einleitung.

Die Leber mit ihren so überaus vielfältigen chemischen Aufgaben im Stoffwechselgeschehen bewältigt nach heutiger Vorstellung diese ungeheure Vielheit der Arbeit mit einer einzigen Zellart, der Leberparenchymzelle. Zwar hat man vielfach nach einer funktionellen Verschiedenheit der Leberzellen und der einzelnen Abschnitte in den Leberläppchen gefahndet, konnte aber überzeugende Beweise dafür bisher nicht beibringen. Man muß also noch heute annehmen, daß in jeder einzelnen Parenchymzelle die Möglichkeit der allerverschiedensten Funktionsbetätigung besteht, so die strenge Geschiedenheit der inneren und äußeren Sekretion der Leber, die Fähigkeit der Neoglykogenie, die ohne die verwickelsten und für die heutige Chemie noch völlig unausführbare chemische Reaktionen nicht denkbar ist, die Gallebereitung, die Abfangsreaktionen — um nur das Wichtigste zu nennen. Zwar hat man dem Lebermesenchym — den KUPFFERschen Sternzellen — einige Aufgaben des Parenchyms zugesprochen, doch bestehen berechtigte Zweifel auch über die Richtigkeit dieser Ansichten. Logischerweise müßte man für die Unsumme der verschiedenen Aufgaben der Leberfunktionen auch greifbarere Verschiedenheiten ihres Parenchyms fordern.

Im Schrifttum ist nun neben der allgemein bekannten Leberparenchymzelle noch ein dunklerer Zelltyp erwähnt, die dunklen Leberzellen (d. Z.). Das Studium dieser d. Z. hat im Lauf der Jahre eine Reihe von Forschern beschäftigt.

Die Annahme einer möglichen Verschiedenheit der Leberzellen ist dabei aber nicht in Betracht gezogen worden, ja es sind diese d. Z. in den üblichen Lehr- und Handbüchern entweder überhaupt nicht oder nur ungenügend erwähnt worden. Dies mag damit zusammenhängen, daß trotz der größeren Zahl von Arbeiten, die über die d. Z. vorliegen, eine Klarheit über die Bedeutung dieser Zellart bisher noch nicht erreicht ist. Dieser Tatbestand muß zu einer neuerlichen Inangriffnahme des Problems führen, wenn man aus dem Vorkommen der dunklen Zellen diagnostische und funktionelle Schlüsse ableiten will.

Zunächst sei eine kurze Zusammenstellung darüber gegeben, welche Funktionen man den d. Z. schon zugeschrieben hat.

1. Cohn (1892) und Gianelli-Giacomini (1896) glaubten in der dunklen Zelle einen besonderen Tätigkeitszustand der Leberzelle vor sich zu haben und bezeichneten sie als ruhende Zellform.

2. Heinrichsdorff (1924), Holmer (1927, 1929) und Ravenna (1932) bezeichneten die d. Z. als hochaktive cholopoetische, d. h. »gallebildende« oder »Gallenleberzellen« und stellten fest:

a) Einen direkten Zusammenhang zwischen dunkler Zelle und Gallenkapillare.

b) Das Auftreten von Gallebestandteilen in der dunklen Zelle.

3. Masachika Kutsuna (1929) und Pfuhl (1932) betrachten die d. Z. als in der Ernährung benachteiligte Zellelemente.

4. Fiessinger (1911), Berg (1913, 1914), Noël (1921, 1923), Forsgren (1928), Böhm (1932) und Clara (1932) sehen in den dunklen Zellen zugrunde gehende oder geschädigte Leberzellen.

5. Die Vorstellung, daß die dunklen Zellen als Kupffersche Sternzellen anzusprechen sind, ist allgemein verlassen worden.

Diese Zusammenstellung zeigt klar, wie diametral sich noch die verschiedenen Ansichten gegenüberstehen, daß somit die funktionelle Bedeutung dieser Zellen noch nicht geklärt ist. Da wir im Laufe mehrjährigen Studiums der experimentellen Beeinflussung der Leberfunktion und der anatomischen Leberstruktur durch Einwirkung seltener Erden (1) immer wieder auf diesen Zelltyp stießen, gingen wir daran, dieses Problem einer erneuten Bearbeitung zu unterziehen; dabei leiteten uns hauptsächlich funktionelle Gesichtspunkte. Unsere Arbeit sollte die ursächlichen Gegebenheiten erfassen, die ein vermehrtes Auftreten von d. Z. in der Leber bedingen. Hierzu können nur Versuche an einer großen Anzahl von Tieren führen, aus denen ein Einblick in das physiologische Geschehen unter funktionellen Belastungsproben gewonnen werden kann. Eine neuerliche Zusammenstellung des Schrifttums erübrigte sich, da M. Clara (2) in seiner umfassenden schönen Arbeit über Bau und Bedeutung der dunklen Leberzellen die vorhandenen Veröffentlichungen wohl erschöpfend bespricht.

B. Werkstoff und Untersuchungsarten.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an 22 Kaninchen und 15 Meerschweinchen durchgeführt. Nach experimenteller Beeinflussung der Leberfunktion (genauere Angaben im entsprechenden Abschnitt!) wurden die Kaninchen durch intravenöse Injektion von etwa 2,5 g Urethan in 25%iger wässeriger Lösung sehr rasch tief narkotisiert und durch nachfolgende Luftembolie getötet. Bei den Meerschweinchen wurde in Chloroform- oder Äthernarkose durch medianen Bauchschnitt das Abdomen eröffnet und durch Anlegung eines beiderseitigen Pneumothorax der Tod herbeigeführt.

An Fixiermitteln wurden verwendet 10%iges neutrales Formalin, Zencker und Bouin-Hollande, für die Glykogenfärbung Carnoy. Ausgewaschen wurde das Formalinmaterial in Leitungswasser, nach Bouin-Hollande in 70%igem Alkohol, nach Carnoys Alkohol-Chloroform-Eisessig in 96%igem Alkohol. Stets wurden zur Fixierung kleinere Leberstücke aus verschiedenen Lappen entnommen, da häufig größere Unterschiede in den einzelnen Leberabschnitten festgestellt wurden.

Der größte Teil unseres Materials wurde auf dem Gefriermikrotom 15 μ dick geschnitten, für feinere Untersuchungen auf Gallenkapillaren, für Glykogen- und Mallory-Färbung wurden Paraffinschnitte hergestellt.

Da uns die im Schrifttum angegebenen Färbungen zur Darstellung d. Z. nicht völlig befriedigten und diese Zellelemente nicht genügend spezifisch darstellten, arbeiteten wir drei neue Färbemethoden aus. Grundsätzlich sei vorausgeschickt, daß wir diese Färbungen fast ausschließlich an Gefrierschnitten anwendeten.

Färbung 1 zur Darstellung dunkler Zellen.

1. Gefrierschnitte, Leitungswasser.
2. 1:10 verdünnte Lösung von Hämatoxylin-Ehrlich; mehrere Stunden bis 2 Tage lang überfärben bis die Schnitte schwarz sind.
3. Leitungswasser.
4. Differenzieren in Weigerts Differenzierungsflüssigkeit 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnt, bis die Schnitte dunkelgrau und etwas durchsichtig werden.
5. Gut auswaschen mit Leitungswasser.
6. Einschluß über Alkohol und Xylol in Balsam.

Färbung 2.

Diese Färbung wird genau so durchgeführt wie Färbung 1; die Differenzierung erfolgt jedoch in einer Differenzierungsflüssigkeit, die wir weniger alkalisch machten wie die nach Weigert, von folgender Zusammensetzung:

Ferricyankalium	2,5
$NaHCO_3$	2,0
Wasser	ad 100,0.

Diese Differenzierungsflüssigkeit wirkt weniger energisch und langsamer wie die nach Weigert.

Färbung 3.

1. Gefrierschnitte, Wasser.
2. Vorfärben mit Ehrlichs-Hämatoxylin 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnt bis zum Schwarzwerden wie oben.

3. Leitungswasser.

4. Differenzieren mit Weigerts Differenzierungsflüssigkeit 1:10 verdünnt, bis die Schnitte graublau erscheinen.

5. Leitungswasser.

6. Nachfärbung mit folgender Lösung: Hämatein 0,5 g gelöst in 100 ccm 50%igem Alkohol; Dauer: 30 Minuten.

7. Leitungswasser.

8. Differenzieren wie unter 4.

9. Leitungswasser.

10. Einschluß in Balsam.

Die d. Z. sind nach diesen Färbungen dunkelblaugrau bis bräunlichviolett gefärbt. Gallenbestandteile bleiben ungefärbt.

Gallenkapillaren stellten wir dar nach Holmer und mit Eisenhämatoxylin Heidenhain, Glykogen wurde nach Best gefärbt, Fett durch Scharlach-R-Färbung.

C. Verzeichnis über die ausgeführten Tierexperimente.

Einwirkung	Tierart	Vers.-Nr.	D. Z.	Tang.-Zellen	Keimende Zellen	
Hämolyse 1	K	1	–	–	–	Hämolyse-Gruppe
Hunger-Hämolyse 1 . .	K	2	+	+	+	
Hunger-Hämolyse 2 . .	K	3	+ +	+	+	
Chelidonin-Hämolyse 1	K	19	–	–	–	
Durst 1	M	6	–	+	–	Durst-Gruppe
Hunger 1.	M	12	+ +	+ +	+ + +	Hunger- bzw. Traubenzuckermangel-Gruppe
Hunger-Phlorrhizin 1 .	M	4	+ +	+	+ +	
Hunger-Phlorrhizin 2 .	M	5	+ +	+	+	
Hunger-Dextrose 1 . .	K	16	+ +	+	+ +	
Hunger-Dextrose 2 . .	K	18	+ +	+	+ +	
Hunger-Dextrose 3 . .	K	15	+ +	+ +	+	
Hunger-Dextrose-Spätfütterung 1.	K	31	+ +	+ –	+ +	
Adrenalin 1	M	7	+ + +	+ +	+ + +	Gruppe mit hormonaler Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels
Adrenalin 2	K	14	+ +	+	+	
Adrenalin 3	M	13	+ +	+	–	
Hunger-Insulin 1 . . .	K	36	+ +	+ +	+ +	
Hunger-Insulin 2 . . .	K	37	+ +	+ +	+	
Atropin 1	K	22	+ –	+	–	Gruppe mit vegetativ nervöser Beeinflussung
Atropin 2	K	33	–	+	–	
Atropin 3	K	35	+ –	+	–	
Pilocarpin 1	M	23	+ +	+	+ +	
Pilocarpin 2	K	29	–	–	–	
Thyroxin 1.	K	20	+ –	+	–	Steigerung des Gesamtumsatzes

Einwirkung	Tierart	Vers.-Nr.	D.Z.	Tang.-Zellen	Keimende Zellen	
Anaphylaxie 1	M	9	–	–	–	Isolierte Beeinflussung des Eiweißumsatzes
Anaphylaxie 2	M	10	–	+	–	
Hunger-Anaphylaxie 1	M	10	+	+	+	
Histamin 1	M	8	–	–	–	
Lanthan akut 1	K	17	–	+	–	Hepatotrope Gifte
Lanthan akut 2	K	21	– +	–	–	
Hunger-Dextrose-Spätfütterung-Lanthan 1 .	K	30	+ +	+ +	+ –	
Phosphor 1	K	24	(–)	(+)	(–) fällt aus	
Phosphor 2.	K	28	+ +	+ +	–	
Normal 1	M	25	+	–	–	Normaltiere
Normal 2	M	26	+	–	–	
Normal 3	M	27	+	–	+	

Tier 1. Hämolyse-Kaninchen 1.

1. Tag: Gewicht 2324 g. Intravenöse Injektion von 70 ccm destilliertem Wasser.
2. Tag: Gewicht 2244 g. Hämolyse mit 60 ccm destilliertem Wasser (36°).
4. Tag: Gewicht 2216 g. Intravenöse Injektion von 85 ccm destilliertem Wasser.
5. Tag: Gewicht 2215 g.
   12 Uhr: Injektion von 95 ccm destilliertem Wasser.
   16 Uhr: Exitus in Äthernarkose, Gewicht 2300 g.
   Zusammenfassende Einwirkung: Hämolyse von 310 ccm Wasser in 5 Tagen auf etwa 180 ccm Blut unter der Annahme, daß die Gesamtmenge Blut etwa $^1/_{13}$ des Körpergewichtes ausmacht.
   Sektionsbefund: Blutbild stark verändert, Stachelbeer-Erythrocyten. Die Blase ist mit 80 ccm blutigem Urin gefüllt.
   Leber: o. B.
   D. Z. finden sich ganz vereinzelt, besonders um die Vena hepatica. Das Parenchym zeigt starke Umbauvorgänge. Häufiges Auftreten von Leukocyten.
   Eisennachweis: negativ.

Tier 2. Hunger-Hämolyse-Kaninchen 1.

1. Tag: Gewicht 2012 g. 0,18 g Phlorrhizin in 1,8 ccm Olivenöl subcutan. Hunger bis zum Tode.
3. Tag: Gewicht 1942 g.
   12 Uhr: Injektion von 30 ccm destilliertem Wasser.
   16 Uhr: Exitus in Äthernarkose.
   Zusammenfassende Einwirkung: Errechnete Blutmenge 155 ccm; Hämolyse durch 60 ccm Wasser in 4 Tagen.
   Befund: Zentrale Atrophie. Die ganze Leber ist diffus tröpfchenförmig verfettet. D. Z. diffus verstreut gehäuft als dunkle Tangentialzellen an den Interlobularsepten.

Niere: Der Urin enthält wenig Eiweiß, Zucker in Spuren, viel Hämoglobin, sehr viel Urobilin, wenig Urobilinogen, kein Bilirubin. Sediment: zylinderförmige Gebilde.
Nierensektion: vereinzelte Hämoglobinzylinder; sonst o. B. Bei der Sektion war die Blase mit blutigem Urin gefüllt.

Tier 3. Hunger-Hämolyse-Kaninchen 2.

1. Tag: Gewicht 3910 g. 0,32 g Phlorrhizin subcutan. Hunger bis zum Tode.
2. Tag: — —
4. Tag: Gewicht 3850 g. Injektion von 80 ccm destilliertem Wasser.
7. Tag: Hämolyse mit 40 ccm destilliertem Wasser.
16 Uhr: Exitus in Narkose. Gewicht 3574 g (— 9%).
Sektion: Niere beiderseitig mit »rotem« Infarkt (grüngelbe Flecken). Blase mit blutigem Urin gefüllt. Urinbefund wie bei Tier 2.
Zusammenfassende Einwirkung: Hämolyse durch 120 ccm Wasser.
Leberbefund: zentrale Atrophie. Leichte Bindegewebswucherung mit Leukocytenherden.
D. Z. reichlich vorhanden, ebenso Tangentialzellen. Häufig finden sich in einer Zelle ein dunkler und ein heller Kern. Die d. Z. sind häufiger am Rande des Schnittes und liegen in Nestern. Stellenweise großblasige Verfettung. Fett und dunkle Zellen liegen beisammen.

Tier 4. Hunger-Phlorrhizin-Meerschweinchen 1.

1. Tag: Gewicht 722 g. 0,3 g Phlorrhizin subcutan. Hunger bis zum Tode!
7. Tag: Befinden sehr schlecht.
Tod in Chloroformnarkose.
Gewicht 380 g (— 47%).
Histologischer Befund: d. Z. in großer Zahl vorhanden.

Tier 5. Hunger-Phlorrhizin-Meerschweinchen 2.

1. Tag: 546 g. Hunger. 0,3 g Phlorrhizin subcutan.
7. Tag: 310 g (— 43%). Leber 22 g.
Tod in Chloroformnarkose.
Histologischer Befund: Zentrale, fettige Degeneration.
D. Z. finden sich zahlreich im relativ gut erhaltenen Lebergewebe, also im peripheren Teil an der Grenze gegen das degenerierte Gewebe. Manche d. Z. enthalten bereits als Zeichen fortschreitender Degeneration zahlreiche Fettvakuolen.

Tier 6. Durst-Meerschweinchen 1.

1. Tag: Gewicht 532 g. Ohne Wasser! Hafernahrung!
2. Tag: Gewicht 466 g (— 12%) ohne Wasser!
4. Tag: Gewicht 406 g (— 24%).
Tod in Chloroformnarkose.
Histologischer Befund: Leber ohne pathologischen Befund, ganz normal, ohne d. Z. Die Kerne stehen äußerst dicht. Dunkle Tangentialzellen vorhanden. Leberparenchymzellen im ganzen kleiner als normal.

Tier 7. Adrenalin-Meerschweinchen 1.

1. Tag: 15.30 Uhr: 0,5 mg Adrenalin.
2. Tag: 9, 12 und 15 Uhr: je 1,0 mg Adrenalin.
3. Tag: 10 und 16 Uhr: 1,0 und 0,5 mg Adrenalin.

Exitus 20 Minuten nach der letzten Injektion durch Chloroform. Zusammenfassende Einwirkung: in 3 Tagen 5 mg Adrenalin. Verwendet wurde Suprarenin „Bayer". Das Tier vertrug die Injektion ohne größere Wirkung; gesteigerte Reaktionsfähigkeit, leichte Dyspnoe. Das Tier hat von 790 g auf 760 g abgenommen.

Histologischer Befund: Leber ziemlich normal. D. Z. reichlich vorhanden diffus im Parenchym. Fett findet sich massenhaft peripher. Fett und dunkle Zellen gehen Hand in Hand.

Häufig finden sich d. Z. in Nester- und Zeilenform (Keimnester). Tangentialzellen fehlen.

Tier 8. Histamin-Meerschweinchen 1.

1. Tag: Gewicht 645 g. 1 mg Histamin subcutan.
3. Tag: Gewicht 660 g. 1 mg Histamin subcutan.
6. Tag: Gewicht 610 g. — —
8. Tag: Gewicht 610 g (—5%). 1 mg Histamin subcutan.

1 Stunde nach der Injektion Tod durch Chloroform.

Histologischer Befund: Leber durchaus normal. Dunkle Zellen fehlen.

Tier 9. Anaphylaxie-Meerschweinchen 1.

Herstellung der Eiweißlösung: Hühnereiweiß in physiologischer Kochsalzlösung 1:4 gelöst.

1. Tag: Gewicht 610 g. Wird mit 0,2 ccm Eiweißlösung subcutan sensibilisiert.
20. Tag: Gewicht 600 g. Reinjektion von 5,0 ccm Eiweißlösung subcutan.
21. Tag: Tod in Chloroformnarkose 24 Stunden nach der Reinjektion.

Befund: Leber völlig normal, d. Z. fehlen.

Der Reinjektionsschock tritt nach 15—20 Minuten auf, Dyspnoe nicht übermäßig, Fell gesträubt, rote Ohren, kleine Augen, halbliegende Stellung, motorische Unruhe.

Tier 10. Anaphylaxie-Meerschweinchen 2.

1. Tag: Tier trächtig. Gewicht 510 g. Sensibilisiert mit 0,2 ccm Eiweiß subcutan.
20. Tag: Gewicht 530 g.
24. Tag: Gewicht 540 g. Reinjektion mit 4,0 ccm Eiweiß subcutan.
25. Tag: Tier tot aufgefunden. Exitus vermutlich 1 Stunde nach der Reinjektion. 12 Stunden später fixiert.

Kadaver zeigt Fäulniserscheinungen. Im Fruchthalter nahezu geburtsreifer Fetus.

Histologischer Befund: Dunkle Leberzellen fehlen; Tangentialzellen vorhanden. Hypostase, Leukocytennester. Hepatitis acuta.

Tier 11. Hunger-Anaphylaxie-Meerschweinchen 1.

1. Tag: Gewicht 500 g. 0,2 ccm Eiweiß subcutan sensibilisiert.
20. Tag: Gewicht 495 g.
25. Tag: Gewicht 517 g.
Ab 25. Tag bis 29. Tag: Hunger.
29. Tag: Gewicht 395 g (— 23%). Reinjektion 5,0 ccm Eiweiß subcutan. Tod in Chloroformnarkose 2 Stunden nach der Reinjektion.
Befund: Periphere fettige Degeneration, vereinzelt in der Randzone dunkle Leberzellen.

Tier 12. Hunger-Meerschweinchen 1.

1. Tag: Gewicht 517 g. Hunger bis zum Exitus.
2. Tag: Gewicht 450 g (— 14%).
7. Tag: Gewicht 370 g (— 28%).
Tod in Chloroformnarkose.
Leberbefund: Zentrale Atrophie, periphere großblasige Verfettung. Dunkle Leberzellen reichlich vorhanden, ebenso Tangentialzellen. Die großblasige Verfettung fällt mit den dunklen Zellen zusammen.

Tier 13. Adrenalin-Meerschweinchen 3.

1. Tag: 9, 12, 15 und 18 Uhr: je 1 mg Adrenalin.
2. Tag: 9, 12 und 15 Uhr: je 1 mg Adrenalin.
Gewichtsabnahme von 705 auf 655 g. Tod nach der letzten Injektion mit Chloroform.
Sektion: Leber gelb verfärbt. Muskulatur stark übererregbar.
Histologischer Befund: Starke Atrophie der Leber. Diffus großblasige Verfettung in der Peripherie. Dunkle Leberzellen vorhanden.

Tier 14. Adrenalin-Jungkaninchen 2.

Versuchsanordnung wie bei Tier 7.
1. Tag: Gewicht 760 g. 10 Uhr: 0,5 mg Adrenalin subcutan.
2. Tag: 9, 12 und 15 Uhr: je 1,0 mg Adrenalin subcutan.
In der Nacht zum 3. Tag Exitus, tot aufgefunden; bei der Sektion zeigt die Lunge pneumonische Herde.
Leberbefund: Dunkle Zellen reichlich vorhanden. Leukocyteninfiltration; die dunklen Zellen bilden Herde und Nester.

Tier 15. Hunger-Dextrose-Kaninchen 3.

1. Tag: Gewicht 3000 g. Hunger bis zum Exitus.
2. Tag: Gewicht 2980 g. 2 g Traubenzucker intravenös als 25% Lösung. 0,65% Abnahme.
3. Tag: Gewicht 2790 g. 2 g Traubenzucker intravenös.
4. Tag: — —
5. Tag: Gewicht 2700 g. 2 g Traubenzucker intravenös. 10% Abnahme.
6. Tag: Gewicht 2650 g. 2 g Traubenzucker intravenös. 12% Abnahme.
7. Tag: Gewicht 2530 g. 2 g Traubenzucker intravenös. 16% Abnahme.
8. Tag: Gewicht 2490 g. 2 g Traubenzucker intravenös. 17% Abnahme.
9. Tag: Gewicht 2500 g. 2 g Traubenzucker intravenös. 17% Abnahme.

10. Tag: Gewicht 2425 g. — — — 19% Abnahme.
12. Tag: Gewicht 2265 g. 2 g Traubenzucker intravenös. 24,5% Abnahme.
13. Tag: Gewicht 2150 g. 2,7 g Traubenzucker subcutan. 28% Abnahme.
14. Tag: Gewicht 2070 g. 2,7 g Traubenzucker subcutan. 31% Abnahme.
10 Uhr: Tod durch intravenöse Urethaninjektion.
Sektion: Bei extrem abgemagertem Tier ist die Leber geschrumpft, dunkel; trotzdem enthält der Dickdarm noch Kotballen.
Befund: Die Leber enthält typische dunkle Zellen und Tangentialzellen in größeren Mengen, auch in Form von Nestern. Es finden sich Nekrosen mit Gallengangsknospen. Zentrale Atrophie. Isoliert verfettet sind die Kupfferschen Sternzellen.
(Beim Hungertier haben wir fettige Degeneration mit Vakuolenbildung in irgendeinem Stadium.
Beim Hunger-Dextrose-Tier treten keine Vakuolen und kein Fett in den Parenchymzellen auf; nur isolierte Verfettung der Sternzellen.)

Tier 16. Hunger-Dextrose-Junghase 1.

1. Tag: Hunger bis zum Exitus.
2. Tag: Gewicht 720 g. 2 g Traubenzucker intravenös.
3. Tag: Gewicht 660 g. 1,5 g Traubenzucker subcutan.
4. Tag: Gewicht 600 g.
5. Tag: Gewicht 540 g. 2 g Traubenzucker subcutan.
6. Tag: Morgens das Tier tot im Stall gefunden, nicht mehr totenstarr. Gewicht 520 g (—28%).
Leberbefund: Es finden sich deutliche 1—2 mm breite Fäulnisräume am Rand sowie um die größeren Gefäße. Zentrale Atrophie, periphere Zellen gut erhalten. Dunkle Leberzellen reichlich vorhanden.

Tier 17. Akutes Lanthan-Kaninchen 1.

Lanthan wird verwendet als $La(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ in wässeriger Lösung, die pro Kubikzentimeter 50 mg Salz enthält.
pro Kilogramm 40 mg Ion!

1. Tag: Gewicht 3010. Intravenöse Injektion von 360 mg ($La(NO_3)_3$, d. i. 120 mg $La^{\cdots}$
2. Tag: Gewicht 2840 g (— 6%).
3. Tag: Gewicht 2860 g morgens (— 5%. Gewicht 3100 g nachmittags (+ 3%). Tod nach 54 Stunden durch intravenöse Urethaninjektion.
Leberbefund: Um die Pfortaderäste finden sich reichlich als breite Säume Tangentialzellen. Dunkle Zellen finden sich diffus im Parenchym verteilt. Gallengangsknospen kommen vor.
Es herrscht bei diesem Tier im allgemeinen nicht das typische dunkle Zellbild; es treten atypische dunkle Zellen auf; Mitosen sind vorhanden. Zeilen von dunklen Zellen fehlen. Häufig finden sich verschieden färbbare Kerne in der gleichen Zelle. Fett nicht vorhanden.

Tier 18. Hunger-Dextrose-Kaninchen 2.

1. Tag: Hunger bis zum Exitus.
2. Tag: Gewicht 3120 g. 2 g Traubenzucker.
3. Tag: Gewicht 3120 g. 2 g Traubenzucker.

4. Tag: Gewicht — 2 g Traubenzucker.
5. Tag: Gewicht 2950 g. 2 g Traubenzucker. 5,4% Abnahme.
6. Tag: Gewicht 2810 g. 2 g Traubenzucker. 10% Abnahme.
7. Tag: Gewicht 2600 g. 2 g Traubenzucker. 17% Abnahme.
8. Tag: Gewicht 2540 g. 2 g Traubenzucker. 18% Abnahme.
9. Tag: Gewicht 2470 g. 2 g Traubenzucker. 21% Abnahme.
10. Tag: Gewicht 2380 g. 2 g Traubenzucker. 24% Abnahme.
11. Tag: Gewicht 2340 g. 2 g Traubenzucker. 25% Abnahme.
12. Tag: Gewicht 2260 g. 2 g Traubenzucker. 28% Abnahme.
13. Tag: Gewicht 2114 g. 2 g Traubenzucker. 32% Abnahme.
14. Tag: — —
15. Tag: Tier morgens tot im Stall. Opisthotonusstellung. Gewicht 1970 g. 37% Abnahme.

Leberbefund: Zahlreiche dunkle Leberzellen. Degenerationen fehlen. Sehr starke Leukocyteninfiltration. Fett fehlt auch in Spuren.

Tier 19. Chelidonin-Hämolyse-Kaninchen 1.

1. Tag: Gewicht 2270 g. 30 mg Chelidonin.
2. Tag: — —
4. Tag: Gewicht 2320 g. 30 mg Chelidonin.
5. Tag: — —
6. Tag: Gewicht 2330 g. 30 mg Chelidonin.
7. Tag: Gewicht 2240 g. 30 mg Chelidonin.
8. Tag: Gewicht 2400 g. 30 mg Chelidonin.
9. Tag: Gewicht 2350 g. 30 mg Chelidonin.
11. Tag: Gewicht 2330 g. 30 mg Chelidonin.
12. Tag: Gewicht 2330 g. 30 mg Chelidonin.
13. Tag: — —
14. Tag: Gewicht 2330 g. 30 mg Chelidonin.
15. Tag: — —
16. Tag: — —
19. Tag: Gewicht 2430 g. 30 mg Chelidonin.
20. Tag: Gewicht 2475 g. 30 mg Chelidonin.
21. Tag: Gewicht 2400 g. 30 mg Chelidonin.
33. Tag: Gewicht 2290 g.
39. Tag: Gewicht 2050 g. Hämolyse mit 33,0 ccm destilliertem Wasser.
41. Tag: Gewicht 2050 g. Hämolyse mit 30,0 ccm destilliertem Wasser.
45. Tag: Gewicht 2210 g. Hämolyse mit 15,0 ccm destilliertem Wasser.

Tod in Chloroformnarkose.

Histologischer Leberbefund: Sehr starke cirrhotische Bindegewebswucherung, breite Stränge, abgeschnürte und degenerierte Läppchen, Bindegewebswucherung besonders in der Gefäßadventitia ausgeprägt. Dunkle Leberzellen fehlen.

Tier 20. Thyroxin-Kaninchen 1.

Dieses Tier erhält innerhalb 16 Tagen 8,2 mg Thyroxin »Roche«, davon in den letzten 8 Tagen 7 mg.

Tod in Chloroformnarkose. Gewichtsverlust von 3280 auf 2950 g.

Befund: Selten gut ausgeprägter Läppchenbau der Leber! Dunkle Zellen fehlen. Es finden sich jedoch »Übergangszellen«, d. h. vereinzelt trübe Zellen.

Tier 21. Akutes Lanthan-Kaninchen 2.

1. Tag: Gewicht 3090 g.
Das Tier erhält pro Kilogramm 60 mg $La^{\cdots}$, d. h. 570 mg Salz als 5% Lösung = 11,4 ccm; Injektion zweizeitig. Auf die Injektion Dyspnoe; am Nachmittag krankes, sehr schlechtes Befinden.
2. Tag: Gewicht 2820 g (— 9%). Befinden gestört.
3. Tag: 10 Uhr: Gewicht 2760 g (— 11%).
Tod durch intravenöse Injektion von 10 ccm 25%iger Urethanlösung.
Befund: Es finden sich häufig Nekrosen, in die Gallengangssprossen einwachsen; überall findet sich eine Regeneration ausgehend von Gallengängen. Dunkle Zellen finden sich sehr vereinzelt und sind erfüllt mit Pigment. Verteilt über die ganz Schnittfläche finden sich vereinzelte Zellen total feintropfig verfettet; es besteht eine schwere diffuse Schädigung, eine Hepatitis acuta. Insbesondere erscheint die Plasmastruktur geschädigt. Viele Kerne sind pyknotisch.

Tier 22. Atropin-Kaninchen 1.

1. Tag: Gewicht 3450 g. 3 mg Atropin subcutan.
2. Tag: Gewicht 3290 g. 4 mg Atropin subcutan.
3. Tag: Gewicht 3250 g. 4 mg Atropin subcutan.
Abends Tod durch intravenöse Urethaninjektion.
Sektion: o. B.
Mikroskopischer Befund: Dunkle Zellen finden sich nur in den glykogenfreien Bezirken in ganz geringer Zahl. Die zentralen Kerne sind pyknotisch.

Tier 23. Pilocarpin-Meerschweinchen 1.

1. Tag: Gewicht 590 g. 4 mg Pilocarpin subcutan. Ohne merkliche Reaktion!
2. Tag: Gewicht 520 g. 5 mg Pilocarpin subcutan.
3. Tag: Gewicht 470 g (— 20). 6 mg Pilocarpin subcutan.
Äußerst starke Durchfälle!
Abends Tod durch Chloroform.
Sektion: Weiße, stecknadelkopfgroße Nekrosen in der Leber.
Befund: Die Nekrosen liegen zwischen zwei Zentralvenen, ein Gallengang oder ein Pfortaderast liegt nicht in der Nähe. Die Leber ist glykogenfrei. Die Nekrosen enthalten Gallengangsknospen. Dunkle Zellen finden sich in großen Mengen. In der Peripherie findet sich eine sehr starke diffuse Verfettung. Dunkle Zellen und Verfettung gehen Hand in Hand.

Tier 24. Phosphor-Kaninchen 1.

Tier macht einen kranken Eindruck. Atmet schwer.
Erhält 5 mg P subcutan, gelöst in Olivenöl.
Wird am 3. Tag getötet.

Obduktion: Beidseitiges Pleuraempyem mit Ergriffensein der Lungen. Leber stark verändert, enthält Tangentialzellen, sonst keine d. Z. Tier wird aus der Versuchsbewertung ausgeschaltet, da es sich nicht um eine reine Phosphorwirkung handelt.

Tier 25, 26, 27.

Es handelt sich um drei durchaus normale Meerschweinchen, die anderweitig benötigt wurden und deren Leber zum Zweck der Kontrolle auf dunkle Zellen durchsucht wurden.

Tier 25: o. B. Dunkle Zellen finden sich sehr wenig, diffus verteilt. Tangentialzellen fehlen.

Tier 26: o. B. Die Leber ist sehr glykogenreich; dunkle Zellen finden sich nur ganz vereinzelt.

Tier 27: o. B. Dunkle Zellen reichlich vorhanden, vor allem als periphere Zellnester; Tangentialzellen fehlen. Das Tier enthielt im Darm einen Bandwurm, der diese Veränderung vermutlich hervorrief.

Tier 28. Phosphor-Kaninchen 2.

1. Tag: Gewicht 2220 g. 1 mg P gelöst in 0,2 ccm Olivenöl subcutan.
2. Tag: Gewicht 2370 g (+8%).
3. Tag: Gewicht 2380 g (+8%). 1 mg P gelöst in 0,2 ccm Olivenöl subcutan.
4. Tag: — —
5. Tag: Gewicht 2450 g (+10%). 1 mg P gelöst in 0,2 ccm Olivenöl subcutan. Tier sehr gesund und wohlauf.
6. Tag: Gewicht 2380 g (+8%).
7. Tag: Gewicht 2470 g (+11%). 1,5 mg P gelöst in 0,2 ccm Olivenöl subcutan.
8. Tag: Gewicht 2420 g (+9%). Hunger! 48 Stunden.
9. Tag: Gewicht 2290 g (+3%). 1 mg P. Hunger.
10. Tag: Gewicht 2190 g (— 1%). Gefüttert!
11. Tag: — –
12. Tag: Gewicht 2420 g (+9%). 5 mg P gelöst in 1 ccm Olivenöl subcutan. Befinden gut.
13. Tag: Gewicht 2260 g (+2%). Hunger! 24 Stunden.
14. Tag: Gewicht 2150 g (— 3%). 5 mg P. Gefüttert.
15. Tag: Gewicht 2160 g (— 3%). 5 mg P. Hunger bis zum Exitus!
16. Tag: Gewicht 1930 g (— 12)%. 5 mg P.

12 Uhr: Befinden o. B.

15 Uhr: Das Tier wurde aufgefunden in Opisthotonusstellung; es zeigte äußerst starke und typische hypoglykämische Krämpfe. Die Erklärung für das Auftreten der hypoglykämischen Krämpfe ist darin zu suchen, daß die Leberzellen durch den Phosphor so schwer geschädigt waren, daß sie im Hunger nicht mehr ihre Aufgabe der Neoglykogenie erfüllen konnten. Die rektale Temperatur war so niedrig, daß ein Fieberthermometer, dessen Skala bei 35° beginnt, keinen Anstieg zeigte. Sofort wurde eine intravenöse Injektion von 2 g Traubenzucker als 20%ige zimmerwarme Lösung gemacht. Nach 1—2 Minuten richtete sich das Tier auf und war wieder vollkommen hergestellt, die

Muskeladynamie verschwand und normale Haltung stellte sich wieder ein. Dargereichtes Futter wurde sofort angenommen. Es hat sich also um sicher hypoglykämische Zustände gehandelt. Nach weiteren 5 Minuten wurde das Tier durch intravenöse Injektion von 10 ccm einer 10%igen Urethanlösung mit nachfolgender Luftembolie (20 ccm) getötet.

Sektion: Die Leber war gelborange verfärbt und zeigte besonders auf der Unterseite starke Einziehungen. Beide Nieren waren gelblich verfärbt und scheinbar verfettet (die histologische Färbung widersprach diesem Befund). Besonders auffallend war nach Eröffnung der Leibeshöhle der intensive Phosphorgeruch.

Mikroskopischer Leberbefund: Das Acinuszentrum ist relativ am besten erhalten und enthält anscheinend d. Z. Die intermediäre Zone ist völlig degeneriert. Die Peripherie enthält helle verfettete Zellen und dunkle Tangentialzellen. Die Fettropfen der Leberzellen haben sich entleert; es bleiben, wie bei Tier 4, Fettschalen übrig.

Tier 29. Pilocarpin-Kaninchen 2.

1. Tag: Gewicht 2250 g. 10 mg Pilocarpin subcutan.
Die Speichelsekretion ist so stark gesteigert, daß der Speichel dem Tiere aus dem Mund fließt.
2. Tag: Gewicht 2250 g. 10 mg Pilocarpin subcutan.
3. Tag: Gewicht 2260 g. 10 mg Pilocarpin subcutan.
4. Tag: Gewicht 2230 g. 10 mg Pilocarpin subcutan. Keine Durchfälle.
5. Tag: Gewicht 2400 g. 10 mg Pilocarpin subcutan.
6. Tag: Gewicht 2390 g.
Tod durch intravenöse Urethaninjektion.
Histologischer Leberbefund: Die Leber ist äußerst glykogenreich; das Zwischengewebe ist stark ausgeprägt. D. Z. sind nicht vorhanden. Doch fällt auf, daß in der peripheren Zellreihe der Acini viele Zellen glykogenfrei sind, wodurch ihr Protoplasma dunkler erscheint, als das der glykogenreichen. Diese Zellen färben sich aber ebenso mit Nichtspezialfärbemethoden; sie sind also keine d. Z. Sie heben sich in der glykogenreichen Leber nur kontrastreich ab. Diese dunkel erscheinenden Zellen zeigen nicht die geringste Kerndegeneration.

Tier 30. Hunger-Dextrose-Spätfütterung-La-Kaninchen 1.

1. Tag: Gewicht 2080 g. Hunger!
2. Tag: Gewicht 2030 g (—2,5%). 2 g Traubenzucker intravenös.
3. Tag: Gewicht 1920 g (—8%). 2 g Traubenzucker intravenös.
4. Tag: Gewicht 1840 g (—11,5%). 2 g Traubenzucker intravenös.
5. Tag: Gewicht 1730 g (—17%). 1,2 g Traubenzucker intravenös.
6. Tag: Gewicht 1670 g (—20%). 2 g Traubenzucker intravenös.
7. Tag: — —
8. Tag: 10 Uhr: Gewicht 1390 g (—33%).
Befinden erträglich; Zufuhr von Haferflocken bis zur Sättigung (50 g) gestattet.
12 Uhr: Gewicht 1450 g. Befinden gut!

9. Tag: Gewicht 1440 g (—31%).
Das Tier erhält intravenös 40 mg $La^{\cdots}$ pro Kilogramm, d. h. 180 mg $La(NO_3)_3$ 6 H_2O.
Befinden o. B.; Zufuhr von 50 g Haferflocken gestattet.
10. Tag: Gewicht 1460 g (—30%). Tod durch 0,5 g Urethan.
Histologischer Befund: D. Z. finden sich vereinzelt. Zeilenbildung der regenerierenden d. Z. war vorhanden; doch bestehen nur noch wenige Zeilen zugrunde gehender d. Z.

Tier 31. Hunger-Dextrose-Spätfütterung-Kaninchen 1.

1. Tag: Gewicht 2400 g. Hunger bis zum 7. Tag.
2. Tag: Gewicht 2320 g (—3,5%). 2 g Traubenzucker intravenös.
3. Tag: Gewicht 2160 g (—10%). 1,33 g Traubenzucker intravenös.
4. Tag: Gewicht 2050 g (—14,5%). 2 g Traubenzucker intravenös.
5. Tag: Gewicht 1940 g (—19%). 1,2 g Traubenzucker intravenös.
Verdächtig auf Tuberkulose, mindestens sehr starke Bronchitis!
6. Tag: Gewicht 1770 g (—26%). 2 g Traubenzucker intravenös.
7. Tag: — 50 g Haferflocken.
8. Tag: Gewicht 1620 g (—33%).
Das Tier ist in äußerst bedenklichem Zustand, sehr elend, schließt die Augen, kann sich nicht mehr auf den Beinen halten, zeigt Adynamie, Krämpfe. Injektion von 2,6 g Trauberzucker. Nach einigen Minuten kommt das Tier unter krampfhaften und schnappenden Atembewegungen zum Exitus. Sofortige intrakardiale Injektion von 1 mg Adrenalin führt nicht zur Erholung.
Die Sektion zeigt in der Lunge chronisch entzündliche Vorgänge, jedoch keine Tuberkulose.
Histologischer Befund: Auf den erten Blick fällt bei der relativ gut erhaltenen Leber eine Vermehrung des Bindegewebes um die Gallengänge auf. Viele sprossende Gallengänge. Fettfärbung ergibt eine isolierte Verfettung der Sternzellen. Diffus im Parenchym verteilt finden sich einzelne d. Z., die aber meist dem Typus »keimende Zellen« zugehören.

Tier 33. Atropin-Kaninchen 2.

1. Tag: Gewicht 2840 g.
10 Uhr: 10 mg Atropin subcutan.
15 Uhr: 20 mg Atropin subcutan.
17 Uhr: 20 mg Atropin subcutan.
} 50 mg als 1%ige Lösung.
Ohne sichtliche Wirkung.
2. Tag: Gewicht 2690 g.
10 Uhr: 20 mg Atropin subcutan.
12 Uhr: 20 mg Atropin subcutan.
15 Uhr: 30 mg Atropin subcutan.
18 Uhr: 30 mg Atropin subcutan.
} 100 mg als 2%ige Lösung.
Sehr stark gesteigerte Reflexe; sonst o. B. Das Tier reagiert auf die sehr großen Dosen nicht: ein eigentümliches Klopfen mit den Vorderbeinen wirkt krampfähnlich, ist aber vielleicht physiologisch.

3. Tag: Gewicht 2670 g.
10 Uhr: 60 mg Atropin subcutan.
12 Uhr: 40 mg Atropin subcutan.
15 Uhr: 60 mg Atropin subcutan.
18 Uhr: 40 mg Atropin subcutan.
} 200 mg.

4. Tag: Gewicht 2700 g.
Befinden o. B.; selbst auf Dosen von 100 mg erfolgt keine beachtliche Reaktion.
10 Uhr: 50 mg Atropin subcutan.
12 Uhr: 100 mg Atropin subcutan.
15 Uhr: 80 mg Atropin subcutan.
18 Uhr: 70 mg Atropin subcutan.
} 300 mg.

5. Tag: Gewicht 2650 g.
10 Uhr: Tod durch intravenöse Urethaninjektion.
Histologischer Befund: Die Leber ist äußerst glykogenreich. D. Z. fehlen fast vollständig. Fett fehlt.

Tier 32 und Tier 34

werden hier nicht angeführt, weil sich besondere Verhältnisse ausgebildet haben, die in einem anderen Zusammenhang behandelt werden müssen.

Tier 35. Atropin-Kaninchen 3.

1. Tag: Gewicht 3070 g. 75 mg Atropin intravenös in Einzeldosen von 25 mg.
2. Tag: Gewicht 2900 g (—6%). Befinden gut. 75 mg Atropin intravenös in Einzeldosen von 25 mg.
3. Tag: Gewicht 2930 g. Befinden gut. 1 Stunde, nachdem das Tier wiederum 25 mg Atropin intravenös erhalten hatte, wurde es getötet.
Bei der Sektion zeigte die Bauchdeckenmuskulatur auffällige fibrilläre Zuckungen. Der histologische Schnitt der sehr glykogenreichen Leber zeigte eine leichte Cirrhose und stellenweise basophile Klumpen, bestehend aus pyknotischen Kernen und Leukocyten. D. Z. fanden sich nur in physiologischen Mengen, jedoch mit besonders starken Degenerationsmerkmalen. Die peripheren Zellreihen des Läppchens sind glykogenfrei und fallen deshalb auf durch dunklere Färbung, ähnlich Tangentialzellen. Fett findet sich in den Parenchymzellen nur in physiologischen Mengen.

Tier 36. Hunger-Insulin-Kaninchen 1.

1. Tag: Gewicht 1320 g. Hunger!
2. Tag: Gewicht 1210 g. Hunger!
3. Tag: Gewicht 1170 g (—11%). Hunger!
11 Uhr: subcutane Injektion von 5 internat. EH Insulin.
12 Uhr: Muskeladynamie, psychische Veränderungen.
12.07 Uhr: hypoglykämische Krämpfe, Rollbewegungen.
12.22 Uhr: 1 mg Adrenalin subcutan.
12.30 Uhr: schwerste Opisthotonuskrämpfe.
12.35 Uhr: Tod im Krampfanfall.

Sektion: o. B.
Der histologische Schnitt zeigt eine durchaus normale Leber. D. Z. mit meist sehr gut erhaltenen Kernen finden sich häufig, reichlich auch als tangentiale Säume. Peripher sind zum Teil die Kupfferschen Zellen verfettet.

Tier 37. Insulin-Hunger-Kaninchen 2.

1. Tag: Gewicht 1540 g. Hunger!
2. Tag: Gewicht 1470 g. Hunger!
3. Tag: Gewicht 1390 g (—10%). Hunger!
11 Uhr: 5 EH Insulin subcutan.
12.25 Uhr: Adynamie.
12.35 Uhr: Krampfanfall.
12.50 Uhr: Schwerste Anfälle.
13.05 Uhr: Tod durch Hypoglykämie.
Sektion: o. B.
Der histologische Leberschnitt zeigt, daß die im großen und ganzen normale Leber d. Z. und Tangentialzellen häufig enthält, ebenso keimende d. Z. Gleichzeitig besteht eine leichte, beginnende periphere Verfettung.

D. Auswertung der Versuche.

1. Über Verteilung und Morphologie der dunklen Zellen.

Die im ganzen nie sehr zahlreichen dunklen Zellen sind in der Leber verschieden verteilt und gelagert. Hiernach kann man unterscheiden:

a) Alleinliegende dunkle Einzelzellen, meist ungleichmäßig in den Leberläppchen verteilt (siehe Abb. 1).

b) Um größere Gefäße und um das periportale Bindegewebe randständig angeordnete dunkle Zellen, sogenannte Tangentialzellen (siehe Abb. 2).

c) In Zeilenform oder Nestern, gelegentlich zu größeren Inseln zusammengeschlossene, über einzelne oder mehrere Leberläppchen verteilte dunkle Zellen (siehe Abb. 3).

Diese nach ihrer Lageverteilung vorgenommene Einteilung der d. Z. kann keine qualitative Unterscheidung bedeuten, sondern soll lediglich eine Aufstellung ihrer häufigsten Erscheinungsformen im Lebergewebe veranschaulichen. Grundsätzlich handelt es sich dabei um die gleichen Zellelemente. Auch darüber besteht kein Zweifel, daß es sich bei den d. Z. um Leberparenchymzellen handelt, da sie so offensichtlich im Verband der Parenchymzellen liegen, daß man sie auch bei größter Kritik nicht von diesen trennen kann.

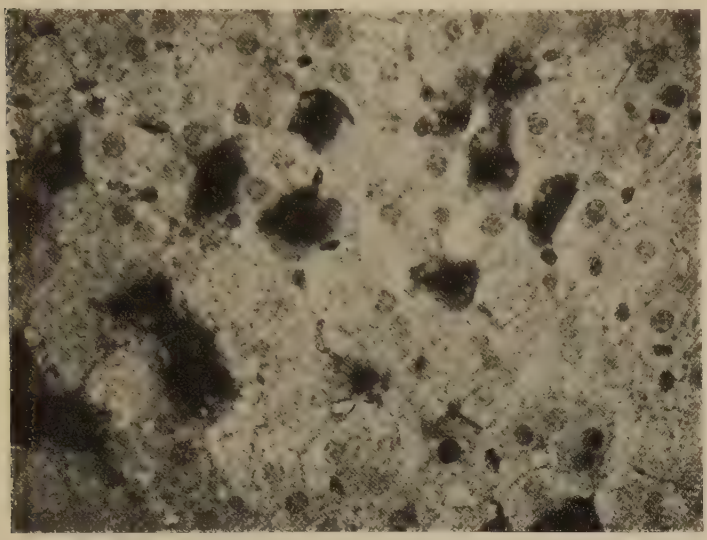

Abb. 1. Tier 7. Leber. Vergr. 400fach. Zugrunde gehende und verfettete d. Z.

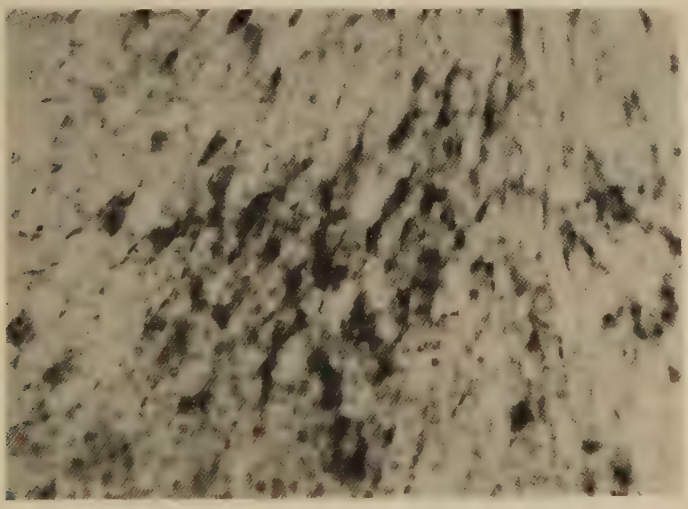

Abb. 2. Tier 23. Leber. Vergr. 200fach. Tangentialzellen.

Morphologisch weichen die d. Z. von den typischen Leberparenchymzellen in einigen Fällen nur wenig, in anderen aber erheblich ab. Im allgemeinen sind die dunklen Zellen deutlich kleiner als die normale Parenchymzelle der Leber. Der wesentlichste Unterschied besteht aber in der Dunkelfärbbarkeit ihres Protoplasmas und Kerns und in einer ge-

wissen Vereinheitlichung ihrer Protoplasmastruktur. Die in der typischen Leberzelle deutlich gekörnte und damit abwechselnd heller und dunkler erscheinende Protoplasmastruktur ist in den dunklen Zellen einer einheitlichen Anfärbbarkeit von eben merklicherer dunklerer Farbe bis zu dunkelsten Hämatoxylintönen gewichen, die irgendwelche Strukturunterschiede nicht mehr zu erkennen gestatten. Bei diesen dunkleren Zellen weicht auch ihre Gestalt deutlich von der vieleckig-rundlichen Gestalt der Normalleberzelle ab, da es mit der stärkeren Dunkelfärbbarkeit gleichzeitig zu einer ausgesprochenen Verkleinerung der Zelle

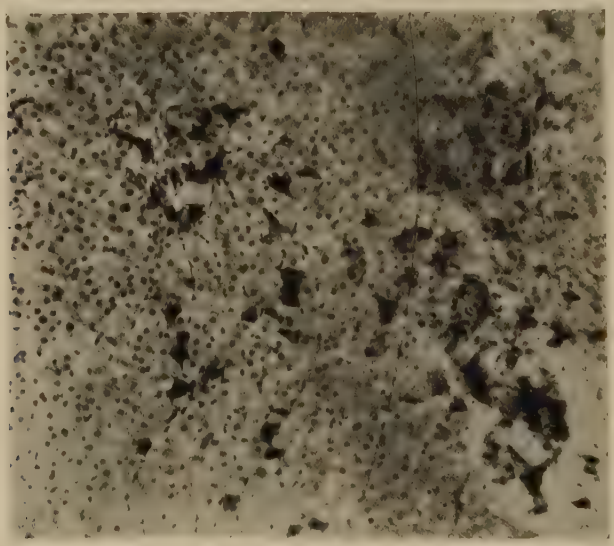

Abb. 3. Tier 7. Leber. Vergr. 100fach. Rechts keimende, links zugrunde gehende d. Z.

kommt. Die Zellkonturen sind dann nicht mehr rundlich, sondern zeigen Ausbuchtungen mit längeren dunklen Fortsätzen in die Umgebung, die von einigen Autoren sogar als Gallenkapillaren gedeutet wurden, damit aber nichts zu tun haben — wie später gezeigt werden soll. Man hat beim Anblick dieser Gestaltveränderung deutlich den Eindruck von Schrumpfungsvorgängen. Dieser Eindruck wird durch das Verhalten der Kerne in den dunklen Zellen verstärkt. Häufig sind sie zwar in den eben sich merklich dunkler färbenden und nicht erheblich verkleinerten Zellen noch ganz normal, also rund und mit deutlichen Nukleolen. Aber auch die Kernstruktur ändert sich mit der Zunahme der Dunkelfärbung. Die Kerne verkleinern sich ebenfalls, werden oval, weiter stärker entrundet und in den am stärksten dunkel gefärbten

Zellen sind sie gelegentlich zur Form kleiner Balken geschrumpft, zeigen also alle Erscheinungen, die wir aus der allgemeinen Pathologie her als Pyknose kennen (siehe Abb. 4). Dagegen sahen wir nie Karyolyse oder Karyorrhexis. Besonders erwähnen müssen wir noch, daß in den d. Z. fast stets zwei Kerne liegen. Was nun die Frage der Zweikernigkeit der Leberzellen, insbesondere aber der d. Z. angeht, so müssen wir auf eine Arbeit von Münzer (3) hinweisen, der die Kernverdopplung amitotisch entstanden denkt und sie dann in Erscheinung treten sieht,

Abb. 4. Tier 23. Leber. Vergr. 1450fach. Zugrunde gehende d. Z. mit zwei pyknotischen Kernen.

wenn eine übermäßige funktionelle Beanspruchung der Zelltätigkeit bei ungünstigen Lebensbedingungen erfolgt.

Ganz eigenartig sind die sogenannten Tangentialzellen gestaltet (siehe Abb. 2). Sie sind stark in die Länge ausgezogen und dadurch in der Querrichtung verdünnt. Entsprechend sind auch die Kerne geformt. Ihr färberisches Verhalten stimmt aber genau mit den übrigen d. Z. überein. Sie sind darum auch qualitativ nicht von den übrigen d. Z. zu trennen. Diese eigenartige morphologische Gestaltung hängt eng mit der Zellform der Umgebung zusammen, und zwar dadurch, daß der Läppchenbau der Leber um die großen Gefäße und das stärker entwickelte periportale Bindegewebe herum sehr unregelmäßig ist, weil diese Leberabschnitte durch die unmittelbare Nähe größerer Gefäße und Bindegewebsmassen offenbar unter bestimmten Zug- und Druck-

wirkungen stehen, die eine Verzerrung der Zellbalken bewirken. Gleichzeitig ist anzunehmen, daß hierdurch auch die Blutversorgung dieser Bezirke notleidet, und daß damit — wie übrigens auch an den spitzzulaufenden Leberrändern, wo ebenfalls dunkle Zellen häufiger als sonst anzutreffen sind – Orte erschwerter Funktionsbedingungen vorliegen. Hierin liegt vielleicht ein Hinweis für das regelmäßigere Vorkommen d. Z., der verfolgt zu werden verdient.

Einer weiteren besonderen Erwähnung bedürfen noch die d. Z., die in Zeilen- und Nesterform auftreten (siehe Abb. 3, 5 und 6). Bei

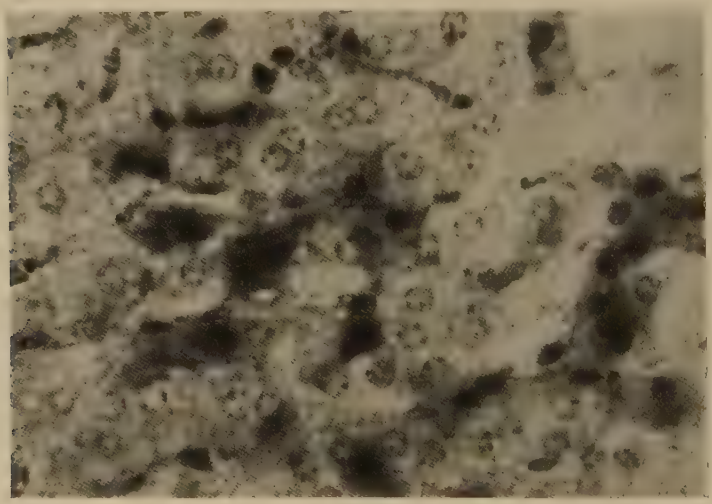

Abb. 5. Tier 23. Leber. Vergr. 600fach. Zeilen keimender d. Z.

den ersteren muß vor allem auffallen, daß sich z. B. entlang einem Leberzellbalken eine ganze Reihe dunkler Zellen mit oft ganz dichtgedrängten Kernen bildet, ein Kern hinter dem anderen, so daß es schwer fällt, die Kernzugehörigkeit zu Zellen festzustellen. Nicht selten tritt eine Zelle seitlich aus dieser Zeile heraus und ist deutlich weniger dunkel gefärbt wie die Zeilenzellen und besitzt einen normalen Kern mit deutlichen Nukleolen. Häufig liegen solche Zellen am Ende einer Zeilenreihe. Man hat bei solchen Befunden unmittelbar den Eindruck, daß hierbei eine Neubildung von Zellen, also ein Wachstum, vorliegt. Mitosen oder Amitosen fanden wir dabei allerdings nicht mit einwandfreier Sicherheit. Den gleichen Eindruck progressiver Vorgänge hat man aber auch bei den in Nestern auftretenden d. Z., wodurch öfter eine mosaikartige Struktur zwischen dunkleren und weniger dunklen Zellen auftritt

und ebenfalls eine Reihe von Zellen mit gut aussehendem Kern oder Kernen, keineswegs den Eindruck zugrunde gehender, sondern proliferierender Zellen macht. Wir bezeichnen daher solche Zelltypen als »keimende Leberzellen«.

In diesem Zusammenhang müssen wir den Befund von zwei verschiedenen Kernen in der gleichen Zelle hervorheben, von denen der eine »pyknotisch«, der andere normal erscheint (siehe Abb. 7). Sollte dieser normale Kern etwa aus einem pyknotischen hervorgegangen sein? Nach allgemeinen pathologischen Erfahrungen ist dies aber abzulehnen.

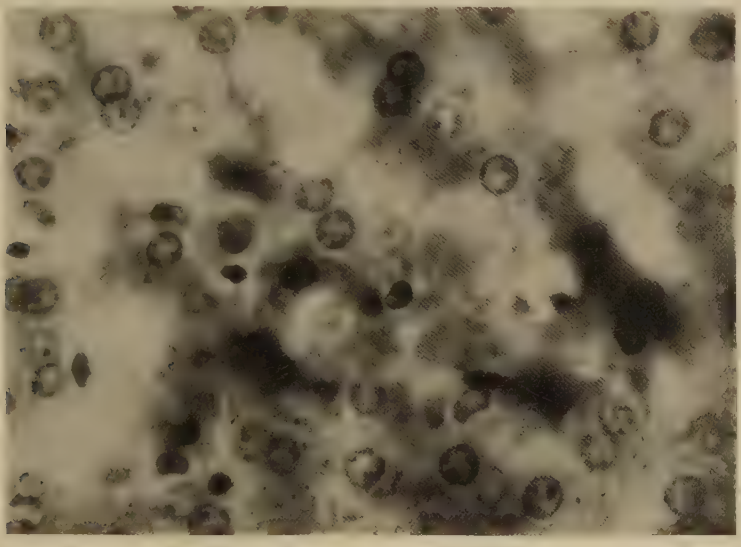

Abb. 6. Tier 18. Leber. Vergr. 750fach. D. Z. mit progressiver und regressiver Tendenz.

Für eine endgültige Beantwortung dieser Frage muß man aber noch das außerordentlich große Regenerationsvermögen der Leber in Rechnung stellen. Die vielen Kerne in den oben erwähnten Zeilen- und Nesterbildungen bei ringsumher völlig normalen Leberzellen könnten vielleicht der Ausdruck einer überstürzten Regeneration sein, die zur Bildung anscheinend pyknotischer Kerne führt. Aus diesen scheinbar pyknotischen Kernen könnten sich normale entwickeln, da es nur bei dieser Annahme verständlich wird, daß Zellen auftreten, die einen pyknotisch und einen normal erscheinenden Kern in ihrem Plasma beherbergen.

Auf eine besondere Eigentümlichkeit in der Lageverteilung d. Z. muß noch hingewiesen werden, nämlich auf die Tatsache, daß die d. Z.

bei Vorhandensein stärkerer oder schwächerer Degenerationszonen im Acinus immer an den Stellen mit schwächerer Degeneration liegen. Auch ein gewisses Parallelgehen des Auftretens d. Z. in Zonen mit großblasiger Verfettung, die ihrerseits ebenfalls meist in den besser erhaltenen Abschnitten der Leberläppchen auftritt, sei noch besonders erwähnt. Im Gegensatz dazu vermißten wir d. Z. fast stets in sehr glykogenreichen Lebern. Es besteht unseres Erachtens sogar ein klarer Antagonismus zwischen Glykogenreichtum der Leber und dem Auftreten d. Z.

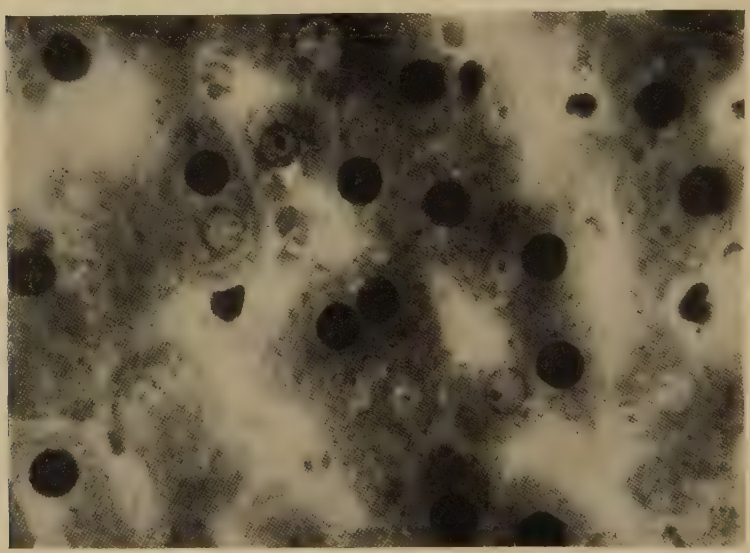

Abb. 7. Tier 3. Leber. Vergr. 900fach. D. Z. mit verschieden färbbaren Kernen.

Überblickt man die zu beobachtenden Eigentümlichkeiten in Verteilung und Morphologie der d. Z., so ergibt sich schon daraus eine Reihe von Hinweisen für die Bedingungen ihrer Entstehung, vielleicht sogar für ihre funktionelle Bedeutung.

Nicht zweifelhaft ist es, daß die d. Z. eine Form der Degeneration der Leberparenchymzelle darstellt. Das ergibt sich unmittelbar aus den stark geschrumpften derartigen Zellen mit schwerer Kernpyknose, wozu gelegentlich noch eine Vakuolenbildung und Fettanhäufung kommt. Darauf weist auch das gehäufte Vorkommen d. Z. an den spitz zulaufenden Leberrändern und in der Nähe großer Gefäße hin, an denen wir Orte erschwerter Funktion als wahrscheinlich annehmen müssen. Vielleicht ist die d. Z. als die natürliche Form der Zellmauserung der Leber aufzufassen. Die Leberzelle mit ihrer so erheblichen

funktionellen Inanspruchnahme und ihrer bekannten, unserer Meinung nach noch immer unterschätzten Regenerationsfähigkeit, muß logischerweise auch einem starken Verschleiß ausgesetzt sein. Man weiß bisher nichts Sicheres über das normale Zugrundegehen der Leberzelle. Die Tatsache aber, daß fast immer, wenn in einigen Fällen auch recht spärlich, d. Z. in jeder Leber zu finden sind (Clara), könnte den Gedanken nahelegen, daß man in ihnen den Normaltyp der Leberzellenmauserung vor sich habe. Alle diese angeführten Beobachtungen können daher — und sind schon in dem Sinne gedeutet worden —, daß die d. Z. ausschließlich Degenerationsprodukte darstellten.

Wir haben aber schon oben darauf hingewiesen, daß das Fehlen deutlicher Zeichen regressiver Vorgänge an sehr vielen d. Z., weiter die Zeilen- und Nesterform sowie das gleichzeitige Vorkommen eines anscheinend pyknotischen Kerns neben einem ganz normalen, und zwar in ein und derselben Zelle, der Vorstellung entschiedene Schwierigkeiten bereitet, hier rein degenerative Vorgänge anzunehmen. Dazu kommt noch das Fehlen d. Z. in schwerer degenerierten Abschnitten der Leber bei gleichzeitigem Vorhandensein in weniger schwer geschädigten Zonen.

Mit diesen Hinweisen, die wir aus der Verteilungsart und dem Verhalten der d. Z. gegenüber der Umgebung sowie aus ihrer genaueren Morphologie erhalten haben, sind die Deutungsmöglichkeiten aus diesen Befunden aber wohl erschöpft. Zum tieferen Eindringen in das Problem der d. Z. müssen wir uns jetzt den experimentellen Maßnahmen zuwenden, von deren Anwendung wir eine Beeinflussung bezüglich des Auftretens der d. Z. erwarten zu dürfen glaubten.

Da aber im Schrifttum schon bestimmte Äußerungen über die funktionelle Bedeutung der d. Z. vorliegen, so wollen wir zunächst darauf eingehen und auf die von uns in gleicher Richtung angestellten Versuche.

II. Experimentelle Beeinflussung der Entstehung dunkler Zellen.

a) Hämolyseversuche.

Von Heinrichsdorff (4), Holmer (5) und Ravenna (6) stammt die Annahme, daß die d. Z. etwas mit der Gallenbereitung zu tun hätten; diese Autoren sprechen sogar von den d. Z. direkt als von »Gallenleberzellen«. Gegen diese Annahme hat allerdings schon Clara (8) scharf Stellung genommen und in einer größeren Reihe von Experimenten diese Ansicht höchst unwahrscheinlich gemacht. Man könnte aber zu den Versuchen von Clara mit Decholin anführen, daß dessen Wir-

kung eine Anregung der Gallensekretion nicht in maximaler Weise und vielleicht auch nicht in rein physiologischer Art gewährleistet. Auch die Fütterung nach Hunger bietet noch keine Gewähr für eine übermäßige Gallensekretion, wie sie Clara damit hervorbringen wollte.

Eine maximale Anregung der Gallenbereitung läßt sich in möglichst physiologischer Annäherung am sichersten durch eine intravaskuläre Auflösung von größeren Mengen von roten Blutkörperchen erzielen. Dies hat schon Stadelmann (9) in lange zurückliegenden Versuchen mit intravenösen Injektionen destillierten Wassers gezeigt. Durch den durch intravenöse Infusion größerer Mengen von destilliertem Wasser plötzlich stark herabgesetzten osmotischen Druck werden die Erythrocyten – genau wie auch im Reagenzglas — aufgelöst. Von den hiermit frei gewordenen Stoffen wird namentlich das Hämoglobin gierig von den Leberzellen aufgenommen und in Bilirubin umgewandelt. Hier liegt also sicher eine sehr erhebliche Beanspruchung dieser Seite der Lebertätigkeit vor. Hierfür dienten unsere Versuche 1, 2, 3 und 19, wobei die Versuche 2 und 3 noch eine besondere Besprechung notwendig machen. Aus den Protokollen ist zu ersehen, daß die Menge und die Zahl der Injektionen von destilliertem Wasser so bemessen gewesen sind, daß eine ausgedehnte Auflösung roter Blutkörperchen stattfand. Sie führten jeweils bis zum Auftreten freien Hämoglobins im Harn und zu entsprechenden Harnsedimenten.

Der Versuchsausfall bezüglich des Auftretens von d. Z. ist in den Versuchen 1 und 19 absolut eindeutig, nämlich eine völlige Unbeeinflußbarkeit in dieser Beziehung, da sich weder Zahl noch Art der d. Z. hierbei änderten. Wir können Claras Versuche hierin nur völlig bestätigen. Auch die Anwendung von vorherigen Chelidonininjektionen im Fall 19, wodurch die Gallensekretion nach bisheriger Annahme noch gesteigert wird, führte zu keiner Vermehrung der d. Z.

Anders ist dies im Fall 3 und 4. In diesen beiden Fällen hatten wir die Tiere noch zu den Hämolyseversuchen hungern lassen, weil völliger Hunger für die Leber eine erhöhte Inanspruchnahme bedeutet, da sie unter diesen Bedingungen aus den Körperreserven Eiweiß und Fett, das funktionsnotwendige Glykogen bzw. Traubenzucker erzeugen muß, also ihre Hauptfunktion, die Neoglykogenie, hierbei zwangsläufig in Tätigkeit tritt (Fischler). Die an sich gesteigerte Arbeitsleistung der Leber wird hierbei also noch durch die Überschwemmung mit gallenbildenden Stoffen weiter beansprucht. Dazu wurde noch Phlorrhizin subcutan gegeben, wodurch Zucker aus den Nieren ausgeschwemmt wird, wodurch die Hungerwirkung noch eine Verstärkung erfährt.

In beiden Fällen fand sich nun in den Lebern der so behandelten Tiere eine deutliche Vermehrung der d. Z., die namentlich bei Tier 3 ausgesprochen war. Es mußte somit die Frage weiter geklärt werden, ob der Hunger an sich die Voraussetzungen für das vermehrte Auftreten d. Z. sein kann.

Darüber hinaus zeigen unsere Experimente aber noch folgendes: Die d. Z. haben auch nichts mit der Blutmauserung zu tun, denn unter den von uns gewählten Bedingungen nehmen die Leberparenchymzellen sehr viel Hämoglobin auf, womit auch in den Versuchen 1 und 19 d. Z. hätten auftreten müssen. Also auch diese Funktionsbelastung führt nicht zu vermehrter Bildung von d. Z. Weiter wird aber durch die so ausgedehnte Zerstörung großer Mengen von roten Blutkörperchen aus ihrem sich auflösenden Stroma viel Lipoid frei, vor allem Cholesterin, und zwar auch in physiologisch sich abspielender Form. Folglich haben die d. Z. auch keine Sonderfunktion im normalen Ablauf des Lipoidstoffwechsels. Die große Menge frei werdenden Globins stellt aber auch an die eiweißbindende Funktion der Leberzellen erhöhte Ansprüche. Wir wissen aus früheren Versuchen Fischlers (10) u. a., daß die Leberzellen frei zirkulierendes Fremdeiweiß aufnehmen, also mit der Verarbeitung von zirkulierendem Eiweiß im allgemeinen zu tun haben. Der Ausfall dieser Versuche zeigt nun aber auch mit Bestimmtheit, daß eine vermehrte Menge zirkulierenden Eiweißes nicht für das Auftreten d. Z. verantwortlich gemacht werden kann.

b) Durstversuche.

Im Verfolg zur Stellungnahme zu schon geäußerten Ansichten bezüglich der Funktionen und der Bedeutung der d. Z. müssen wir uns nun zu der Ansicht Claras wenden, daß die d. Z. durch eine Veränderung ihres »eukollioidalen« Zustandes durch Entquellung in eine »geloide« Zustandsform entstünden. So wahrscheinlich und plausibel diese Ansicht ist, so schwierig ist es, ihr eine reale experimentelle Grundlage zu geben. Mit größter Wahrscheinlichkeit lassen die eigentümlichen Veränderungen des färberischen Verhaltens der d. Z. Umwandlungen in ihrer Plasmastruktur vermuten. Halten wir uns an die Vorstellung der Entquellung, so ist damit im wesentlichen doch wohl der Wasserentzug gemeint. Wir glaubten also den Ansichten Claras dadurch am nächsten zu kommen, daß wir einen Durstversuch bei einem Tiere anstellten. Protokoll Tier 6 gibt darüber nähere Auskunft.

Wir ließen ein Meerschweinchen 4 Tage völlig dursten und reichten ihm in dieser Zeit nur Hafer, der bekanntlich sehr wenig Flüssigkeit

enthält. Bei einem Gewichtsverlust von 24%, der zum größten Teil ein Wasserverlust sein muß, wurde das Tier getötet. Die Leber dieses Meerschweinchens enthielt keine d. Z. Vereinzelt waren physiologische Mengen von Tangentialzellen anzutreffen. Aber ein Befund, der uns auch annehmen läßt, daß unsere Absicht des Wasserentzuges speziell auch in der Leber tatsächlich gelungen ist, war in der Leber dieses Tieres sehr auffällig, nämlich ein enormer Reichtum und das besonders dichte Beisammenliegen der Zellkerne in den verkleinerten Zellen. Dabei konnten wir keine Veränderungen an den Leberzellen feststellen, wie z. B. beim Hungern. Hunger war also nicht die Ursache dieser Zelleigentümlichkeiten, sondern der Durst, d. h. der Wasserentzug. Das völlige Fehlen d. Z. in diesem Falle spricht nicht für die Entquellungstheorie Claras. Um so mehr gilt es die Hinweise zu verfolgen, die wir bei Hungertieren erhalten haben.

c) Hungerversuche.

Schon Ravenna war es aufgefallen, daß Hungertiere in ihren Lebern auffällig viele d. Z. zeigten. Unsere Versuche sind zu gliedern in einfache Hungerversuche, Hungerversuche mit Verstärkung des Hungereinflusses, Hungerversuche mit Abschwächung des Hungereinflusses auf die Lebertätigkeit durch kurzdauernde Nachfütterung.

Einige noch nicht zum Allgemeingut gewordene Vorstellungen über den Einfluß von Hunger auf die Leber seien vorausgeschickt. Die Leber als einziges zur Neoglykogenie befähigtes Organ des Körpers (Fischler) wird im Hungerzustand außerordentlich funktionell beansprucht. Sie muß die verwickeltsten chemischen Umsetzungen vollziehen, um aus Eiweiß und Fett Glykogen bzw. Traubenzucker zu bilden, der wie die »glykoprive Intoxikation« (Fischler) erstmals bewies, zur Umwandlung der Stoffwechselschlacken zu den normalen harnfähigen Endprodukten des Stoffwechsels in der Leber unentbehrlich ist. Hunger bedeutet somit für die Leber immer funktionelle Umstellung und je nachdem eine an Schädigung heranreichende Höchstleistung. Das zeigen die Hungerazidosis und das Kreisen unvollständiger N-Abbauprodukte an der Harnstoffabnahme im Harn. Es darf uns also nicht wundern, wenn wir im protrahierten totalen Hunger auch auf direkte Schädigungen des Leberparenchyms stoßen. Dies zeigt auch der erste einfache Hungerversuch an einem Meerschweinchen (Versuchsprotokoll Tier 12). Das Tier hungerte 7 Tage völlig und war an diesem Tage sehr elend, da es 28% an Gewicht eingebüßt hatte. Es wurde getötet. Die Leber zeigte im Zentrum des Acini hochgradige regressive Zustände

an den Zellen mit starker Rarefizierung der Zellbalken und eine großblasige Verfettung in der Peripherie derselben. D. Z. und Tangentialzellen sind sehr reichlich vorhanden. Die d. Z. liegen alle in der Acinusperipherie, also in den besser erhaltenen Teilen des Lebergewebes. Also auch hier war unter reiner Hungerwirkung eine Vermehrung der d. Z. eingetreten.

Einer Verstärkung der Hungerwirkung dienten die beiden nächsten Versuche (Versuchsprotokoll Tier 4 und 5). Hierzu wurde bei den Tieren ein Phlorrhizindepot in Öl subcutan angelegt, womit eine mehrtägige Zuckerausscheidung im Harn bewirkt wird. Gleichzeitig hungerten beide Tiere 7 Tage total. Der Gewichtsverlust betrug bei Tier 4 47%, bei Tier 5 43%. Die Lebern beider Tiere zeigten noch stärkere regressive Vorgänge in den Leberzellen im Zentrum der Acini, während der periphere Acinusabschnitt relativ gut erhalten war. Die Zahl der d. Z. war wiederum stark vermehrt, sie lagen ebenfalls im besser erhaltenen peripheren Acinusabschnitt. Teilweise waren sie verfettet. Ihre Kerne weisen eine deutliche Pyknose auf. Also auch die verstärkte Hungerwirkung führt zum Auftreten d. Z.

Die Erkenntnis, daß die Leberschädigung durch Hunger vermutlich ausschließlich durch den Traubenzuckermangel hervorgebracht wird, hat uns veranlaßt, mit der intravenösen Zufuhr von für die Ernährung belanglosen Traubenzuckermengen die Leberzellen im Hunger arbeitsfähiger zu erhalten und die reine Hungerwirkung damit noch zu verlängern. Diesen Überlegungen dienten drei Versuche an Kaninchen (Versuchsprotokoll Tier 15, 16 und 18). Die drei Kaninchen zeigten kurz vor dem Tode hypoglykämische Erscheinungen. Von früheren Versuchen wissen wir, daß ein Gewichtsverlust von etwa 30% beim Kaninchen lebensbedrohend ist durch Ausbildung hypoglykämischer Symptome.

Die Lebern aller drei Tiere enthielten nun enorme Mengen von d. Z. und Tangentialzellen. Im Acinuszentrum waren stets regressive Vorgänge mit Abschmelzung der Zellbalken zu beobachten. Fett konnte in den Leberparenchymzellen nicht nachgewiesen werden. Doch waren die Kupfferschen Sternzellen verfettet.

Besonders hervorhebenswert ist es aber, daß bei diesen Versuchen die d. Z. in Form von Zeilen und Nestern uns hier erstmalig begegneten, wobei sich die Vorstellung von Neubildungsvorgängen und Regenerationszentren unwillkürlich aufdrängte. Es ist dies deshalb wichtig, weil wir ja von der Vorstellung ausgingen, daß die kleinen für die Ernährung belanglosen Mengen intravenös gegebenen Traubenzuckers die Leberzellen befähigen könnten auch noch beim Hunger wenig-

stens die gröbsten Umsatzstörungen zu überwinden und selbst funktionsfähiger zu bleiben. Die Versuchsausfälle scheinen unseren Überlegungen recht zu geben, da durch die so geringe Traubenzuckerzufuhr das Leben der Tiere beachtlich verlängert und die Gewichtsabnahme noch stärker wird, bis das Leben gefährdet ist. Hierher möchten wir auch noch die isolierte Verfettung der KUPFFERschen Sternzellen zählen, während die Parenchymzellen nicht verfettet erscheinen. Offenbar können diese das zugeführte Fett noch verwerten und in unentbehrliches Kohlehydrat verwandeln. Das können die KUPFFERschen Zellen nicht, da das ja auch gar nicht ihre Aufgabe ist. Sie unterliegen also einer fettigen Metamorphose, weil sie diesmal schwerer von den Schädlichkeiten betroffen werden wie die Parenchymzellen, die ihr chemisches Betriebsmaterial Traubenzucker wenigstens noch in geringer Dosis erhalten. Die Vorstellung einer Besserstellung der Leberparenchymzellen durch die kleinen Traubenzuckergaben ließe sich auf diese Erklärungsweise wohl verstehen. Hierbei sieht man nun gleichzeitig das Auftreten von d. Z. in Formen, die den Gedanken einer Proliferation dieser Zellen unabweisbar machen! Es ist das geradezu eine Bereitstellung von Reserven.

Wenn diese Vorstellungen auch schon hiermit einen höheren Grad von Wahrscheinlichkeit angenommen hatten, so werden sie durch den folgenden Versuch noch weiter gestützt. Wir sagten uns, daß durch eine kurze Fütterung am Ende einer schweren Hungerperiode die Zahl der d. Z., die wir vorher durch die Hunger-Dextrose-Periode hervorgerufen hatten, sofort vermindert werden müßte, wenn sie Reserven darstellen, die unmittelbar in die Reihen der vollwertigen Zellen einrücken können. Über den Ausfall dieses Versuches berichtet das Protokoll Tier 31.

Kaninchen 31 hungerte 6 Tage bis zu einem Gewichtsverlust von 26%. Es erhielt täglich 2 g Traubenzucker intravenös. Am 7. Tage erhielt es 50 g Haferflocken zu fressen. Am 8. Tage betrug die Gewichtsabnahme trotz der Fütterung 33%. Plötzlich bekam das Tier einen hypoglykämischen Anfall, an dem es starb; eine versuchte Traubenzuckerinjektion kam zu spät.

Die Leber dieses Tieres zeigte ein völlig anderes Verhalten wie die der vorhergehend beschriebenen Tiere. Wir vermißten die bisher regelmäßig gefundenen, zentral im Acinus sitzenden regressiven Veränderungen und — was für unsere Fragestellung am wichtigsten war — die d. Z. sind in ihrer Zahl ganz bedeutend zurückgegangen, es fehlen die Nester- und Zeilenbildungen. Das gilt nahezu völlig für die über den

Acinus verstreut liegenden d. Z., weniger für die Tangentialzellen, die an einigen Stellen noch zahlreich vorhanden sind. Es ist also bezüglich der d. Z. das eingetreten, was wir erwartet hatten. Unter der Wirkung der schwachen Fütterung am Ende der schweren Hungerperiode, eine Fütterung, die nicht einmal genügte, ein weiteres Absinken des Gewichts zu verhüten und den Blutzuckergehalt für längere Zeit aufrechtzuerhalten, haben sich die d. Z. offenbar zum allergrößten Teil zu normalen umgebildet. Für das Überwiegen tatsächlich progressiver Vorgänge haben wir aber in dem gleichzeitigen Verschwinden der sonst regelmäßig in Begleitung schweren Hungers gefundenen, im Zentrum der Acini sitzenden regressiven Veränderungen, einen kaum anfechtbaren Beweis. Die kurze Zeit aber, in der alle diese Schäden ausgeglichen werden konnten, zeigt wiederum die außergewöhnliche Regenerationsfähigkeit des Lebergewebes. Als einzige Reste regressiver Vorgänge finden sich noch isoliert verfettete Kupfferschе Sternzellen, deren Auftreten wir ja auch in den Lebern der früheren Tiere beschreiben konnten. Da ihnen aber — wie schon hervorgehoben — eine Umwandlung von Fett in Kohlehydrat nicht zukommt, sondern dies allein die Leberparenchymzelle zu leisten imstande ist, darf es uns nicht wundern, auch in diesem Falle noch regressive Verfettungserscheinungen in ihnen zu finden.

Aus dieser Versuchsreihe geht einmal hervor, daß Hunger namentlich, wenn er mit einer gewissen Erleichterung der Leberzellenarbeit durchgeführt wird, zum regelmäßigen Auftreten d. Z. führt, die hier erstmals so zahlreich vorhanden waren, daß Zeilen- und Nesterbildungen beobachtet werden konnten, in denen die d. Z. besonders gut erhaltene Kerne aufwiesen. Es fehlten also Zeichen eigentlicher Degeneration. In der zweifellos regressiv veränderten Acinusmitte trafen wir aber nie d. Z. an, im Gegenteil nur in den kaum veränderten mehr peripher gelegenen Läppchenabschnitten. Wären die d. Z. Produkte reiner Degenerationswirkung, so wäre es unverständlich, daß wir sie nicht auch in den Bezirken mit zweifelloser Schädigung in der Acinusmitte angetroffen hätten, Schädigungen, die überdies — wie der Versuch Tier 31 lehrt — wieder zu einem völligen Ausgleich gebracht werden können. Dies alles muß zur Vorstellung von progressiven Vorgängen führen, die kaum anders als überstürzte Regenerationsbestrebungen gedeutet werden können.

Hungerwirkung ist nun ein allgemeiner Begriff, der nach sonstigen Erfahrungen mit einem für die einzelnen Gewebe verschieden raschen Abschmelzen von Zellmaterial einhergeht. Es wurde aber schon wieder-

holt darauf verwiesen, daß Hunger für die Leber etwas ganz anderes bedeutet wie für die übrigen Körperorgane. Sie muß im totalen Hunger ihre Funktion grundlegend für die Neoglykogenie umstellen, wobei sie für die richtige Endverarbeitung der Stoffwechselprodukte zu harnfähigen Stoffen, Traubenzucker (vor allem dessen Spaltprodukte Dioxyaceton und Methylglyoxal) (Fischler) in bestimmter Menge als chemisches Betriebsmaterial für die hierzu notwendigen Oxydoreduktionsprozesse und andere nötig hat. Es ist also gewiß nicht abwegig, wenn man den Hungerzustand in der Leber mehr oder minder mit einem Mangel an Traubenzucker identifiziert. Sind diese Gesichtspunkte richtig, so muß man nach dem Ausfall dieser Versuchsreihe mit einer möglichst isolierten Einwirkung auf den Kohlehydratgehalt der Leber die gleichen Veränderungen hervorbringen können wie mit allgemeinem Hunger. Besonders interessant ist hierbei aber die Frage, ob unter diesen Umständen ebenfalls ein vermehrtes Auftreten von d. Z. nachgewiesen werden kann. Die folgenden Versuche sollen dieser Frage nachgehen.

d) Adrenalin- und Insulin-Versuche.

Das Problem einer isolierten Schädigung des Kohlehydratgehaltes der Leber läßt sich annähernd nur mit hormonaler Beeinflussung erzielen. Wir wissen von der Adrenalinwirkung, daß sie eine Mobilisation der Glykogenvorräte der Leber bewirkt. Für die Leber weniger spezifisch ist die Einwirkung von Insulin. In der Hauptsache baut eine verstärkte Insulinwirkung bekanntlich das Muskelglykogen ab. Reflektorisch wird hierdurch aber der Gesamtkohlehydratgehalt betroffen, wobei in der Leber ein relativer Glykogenmangel durch die vom Insulin bewirkte Glykogenfixierung hervorgerufen wird. Wiederholt ist schon betont worden, daß Glykogen und seine Spaltprodukte nur dann regulierend im Stoffwechsel wirken können, wenn Traubenzucker stets »verfügbar« ist, was bei stärkerer Insulinwirkung nicht der Fall ist. Es dürfte also im Verfolg der Frage, ob die d. Z. namentlich auf Grund des Fehlens oder ungenügenden Zurverfügungstehens von Traubenzucker auftreten, gerade auch Versuchen mit insulinbedingter Hypoglykämie eine nicht unwesentliche Bedeutung zukommen. Dieser Versuchsreihe dienten 3 Tiere, die mit Adrenalin behandelt wurden, und 2 Tiere, die Insulin bis zu hypoglykämischen Krämpfen erhielten.

Die Versuchsprotokolle 7, 13 und 14 geben über die Adrenalinversuche, Nr. 36 und 37 über die Insulinversuche Auskunft.

Relativ geringe Dosen von Adrenalin erhielten die Tiere 7 und 14. Bei beiden Tieren fanden sich massenhaft d. Z., wiederum auch in Zeilen-

und Nesterform. Die d. Z. sind hierbei parallelgehend mit der großblasigen Verfettung angeordnet. Wichtig ist der Befund bei Tier 13. Es hat im ganzen 7 mg Adrenalin in 2 Tagen erhalten, eine sehr hohe Dosis für das Meerschweinchen von etwa 700 g. Entsprechend ist die Leber viel stärker verändert wie bei den beiden anderen Adrenalintieren. Sie ist diffus großblasig verfettet, namentlich im Acinuszentrum finden sich deutliche Zeichen von Zelldegeneration, weniger in der Peripherie. Dort aber sind d. Z. in ziemlich großer Anzahl anzutreffen, die aber deutlich regressive Zeichen tragen. Wir vermissen hier Zeilen- und Nesterformen. Im Acinuszentrum fehlen die d. Z. Es ist kein Zweifel, daß hier die große Dosis des verwendeten Adrenalins hauptsächlich toxisch gewirkt hat und damit die schweren Leberläsionen hervorbrachte, die dem Auftreten d. Z. so abträglich sind.

Sehr interessant sind die Befunde bei den beiden mit Insulin behandelten Tieren. Die Lebern beider Tiere enthielten deutlich vermehrte d. Z., die aber im Gegensatz zu den d. Z. der Adrenalintiere keinerlei regressive Zeichen aufwiesen, sondern fast alle in unsere Einteilung »keimende Leberzellen« gehören. Wir sehen also hierbei, wo die Beeinflussung des Kohlehydratgehaltes der Lebern sich durch das Experiment in relativ geringen Grenzen hält, daß eine deutlich andere Reaktion der d. Z. zu finden ist, wie in den vorher mitgeteilten Fällen.

Diese Versuchsreihe hat somit unsere Annahme, daß der Traubenzuckermangel das Auftreten der d. Z. wesentlich bestimmt, unseres Erachtens ganz klar bestätigt. Wir mußten danach annehmen, daß — da die Wirkung des Hormons Adrenalin seinen Angriff über das Nervensystem ausübt — auch eine direkte Beeinflussung des Nervensystems für das Auftreten der d. Z. wesentlich sein könnte. Auch hier ist es bzw. der Leber nicht ganz leicht, sicher spezifisch wirkende Substanzen zur Anwendung zu bringen; wir entschlossen uns daher, zwei vielfach antagonistisch wirkende Alkaloide zu verwenden, die im vegetativen Nervensystem angreifen, nämlich das Atropin und das Pilocarpin, zumal vom Atropin im Schrifttum behauptet wird, daß es d. Z. hervorrufe.

e) Beeinflussungen der Lebertätigkeit vom vegetativen Nervensystem aus.

Die wesentliche Wirkung des Atropins im Gebiete des vegetativen Nervensystems ist seine lähmende Eigenschaft für die peripheren Erfolgsorgane, also der Speichelsekretion, Magensaftsekretion usw. Wir mußten von ihm erwarten, daß es in der wohlgefütterten Leber die

innere Sekretion hemme, also zu einer Anhäufung von Glykogen führen müsse. Vom Pilocarpin durften wir das Gegenteil erwarten.

Die Versuchsprotokolle Nr. 22, 33 und 35 geben Auskunft über die Atropinversuche, Nr. 23 und 29 über die Pilocarpinanwendung.

Es ist schon länger bekannt, daß Atropin von Kaninchen in weit höheren Dosen ertragen wird, wie sie beim Menschen angewendet werden können. Ravenna injizierte seinen Tieren täglich 10—20 mg intravenös.

Wir fingen beim Kaninchen 22 mit subcutanen Injektionen von 3 mg am 1. und 4 mg am 2. und 3. Tag an. Irgendeine Reaktion des Tieres konnte darauf nicht beobachtet werden. Am 3. Tag wurde das Tier getötet. Die Leber zeigte nur ganz geringe Mengen von d. Z. als Tangentialzellen, die glykogenfrei waren, während alle sonstigen Leberzellen enorm glykogenreich waren.

Tier 33 erhielt dann weit höhere Dosen subcutan, innerhalb 4 Tagen 650 mg! als Atropinsulfat. Auch bei diesen hohen Dosen erfolgte keinerlei bemerkbare Reaktion des Tieres. Der histologische Leberbefund ähnelte ganz außerordentlich dem des vorher beschriebenen Tieres.

Kaninchen 35 erhielt im ganzen 325 mg Atropin in 3 Tagen intravenös und wurde 1 Stunde nach der letzten Injektion getötet. Auch hier stimmt das mikroskopische Bild der Leber völlig mit den beiden vorhergehenden Tieren überein. Der auffällig starke Gehalt aller drei Lebern an Glykogen sei nochmals betont. Die positiven Befunde an d. Z., die Ravenna erhielt, konnten wir nicht bestätigen; wir erklären sie dadurch, daß Ravenna an seinen Tieren gleichzeitig chirurgische Eingriffe vornahm. Überdies haben wir das Auftreten d. Z. bei so glykogenreichen Lebern nie gesehen.

Von den Pilocarpininjektionen erwarteten wir eine Abnahme des Glykogens und das Auftreten d. Z. Diesen Versuchen dienten zwei Tiere, Meerschweinchen 23 und Kaninchen 29.

Das erste Tier erhielt subcutan am 1. Tag zweimal 2 mg, am 2. Tag im ganzen 5 mg und am 3. Tag 6 mg Pilocarpin. Vom 2. Tage an bestanden sehr heftige Durchfälle. Es ergab sich bei der Tötung des Tieres ein Gesamtgewichtsverlust von 20%. Die Leber wies ziemlich viele etwa stecknadelkopfgroße weißliche Flecke auf, die sich mikroskopisch als Nekrosen des Leberparenchyms erwiesen, in denen aber einzelne feinere Gallengänge erhalten waren oder sogar eine Sprossung von solchen Gängen stattgefunden hatte. Die Läppchenzentren zeigten überall deutlich regressive Vorgänge mit Verschmälerung der Zellbalken und Rarefizierung des Zellprotoplasmas. Die peripheren Teile der Acini

waren viel besser erhalten, zeigten aber vielfach großblasige Verfettung. In dieser Zone lagen nun zahlreiche d. Z., die aber meist einzeln angeordnet waren, mit oft sehr gut ausgebildetem Kern. Zeilen- und Nesterformen waren entschieden selten. Glykogen enthielt diese Leber nicht.

Es erhob sich die Frage, ob nicht die starken Durchfälle im Sinne einer Hungerwirkung zum Auftreten der d. Z. geführt haben könnten. Auch die Erklärung der kleinen Nekrosen war schwierig. Ähnliche feine Nekroseherde hat Fischler (11) schon früher bei weitgehender Funktionsschädigung der Leber gesehen und beschrieben. In Analogie mit den damaligen Befunden muß auch in diesem Falle mit einer dem Pilocarpin zukommenden Störung, also nicht allein mit dem Hungerzustand infolge der Durchfälle, gerechnet werden. War diese Annahme richtig, so durften Pilocarpingaben, die nicht zu sicheren Vergiftungserscheinungen führten, keine wesentlichen Veränderungen hervorrufen.

Diese Annahme wurde durch den Pilocarpinversuch bei Tier 29 bestätigt. Es erhielt 5 Tage lang täglich zweimal 5 mg Pilocarpin, im ganzen also 50 mg. Am 6. Tage wurde es getötet. Ein Gewichtsverlust war nicht aufgetreten, ebenso keine Durchfälle. Eine klinisch sichtliche Reaktion des Tieres auf die Injektionen bestand aber in einem deutlichen Speichelfluß. Die Leber war makroskopisch normal. Mikroskopisch wurde dies bestätigt. Ein sehr starker Glykogenreichtum muß besonders hervorgehoben werden. Bis auf wenige Zellen, die an der Acinusperipherie liegen, sind alle Zellen ganz dick mit Glykogenkörnchen ausgestopft. D. Z. fehlten völlig, auch jede Kernveränderung. Man darf die glykogenfreien Zellen der Acinusperipherie nicht mit d. Z. verwechseln, da sie im Gegensatz zu den glykogenreichen sonstigen Zellen auch nach unserer Färbemethode dunkel erscheinen, weil ihr Protoplasma nicht durch die Glykogeneinlagerung aufgehellt erscheint. Man sieht diesen Unterschied aber genau so bei der einfachen Hämatoxylinfärbung, wobei die d. Z. ja nicht spezifisch gefärbt werden.

Somit ist an diesem Versuch festzustellen, daß eine nichttoxische Wirkung von Pilocarpin (Fehlen des Gewichtsverlustes) weder das Auftreten d. Z. noch eine Glykogenverminderung in der Leber bewirkt. Auch hier zeigt es sich also, daß das Auftreten von d. Z. in besonderer Weise an den Kohlehydratgehalt der Leber geknüpft erscheint.

In diesem Zusammenhang betrachtet, schien uns noch die Frage wichtig, ob nicht eine Gesamtbeeinflussung der Lebertätigkeit im Sinne eines gesteigerten totalen Leistungsanspruches zum Auftreten von d. Z.

führen könne. Eine solche nicht isoliert den Kohlehydratgehalt betreffende Leistungsbeanspruchung der Leber läßt sich mit Thyroxin herbeiführen.

f) Thyroxinversuch.

Kaninchen 20 erhielt innerhalb von 16 Tagen jeden 2. Tag 1 mg Thyroxin, im ganzen 8 mg. Der Gewichtsverlust betrug trotz guter Fütterung 9%.

Die Leber war ganz normal. Ein vermehrtes Auftreten von d. Z. war nicht eingetreten. Somit führt eine Steigerung des Totalumsatzes in der Leber nicht zum Auftreten d. Z.

Um so wichtiger erschien es uns nun noch in besonderen Versuchen zu prüfen, ob nicht eine mehr oder minder isoliert auf die Eiweißumsetzung gerichtete und gesteigerte Lebertätigkeit in dieser Weise wirkt.

g) Versuche mit erhöhter Eiweißumsetzung in der Leber.

In dieser Richtung liegt schon eine Versuchsreihe vor, die aber einen erhöhten Umsatz körpereigenen Eiweißes zur Grundlage hat, die Hämolyseversuche mit Freiwerden größerer Mengen Globin aus den hämolysierten roten Blutkörperchen. Sie war völlig eindeutig negativ bzw. des Auftretens d. Z. Diese Ergebnisse ohne weiteres auf Fremdeiweiß zu übertragen, erschien uns nicht angängig. Aus diesem Grunde haben wir noch einige Versuche mit anaphylaktischer Reaktion durchgeführt, wodurch die Leber als Eiweißfilter funktionell beansprucht wird. Diesen Versuchen dienten die Tiere 9 und 10. Beide Tiere wurden mit einer Eiereiweißaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung subcutan von 0,2 ccm sensibilisiert. Tier 9 wurde am 21. Tag mit 5 ccm der Eiereiweißaufschwemmung reinjiziert. Nach 15 Minuten trat der Schock auf, nach 24 Stunden wurde das Tier getötet. Tier 10 wurde am 24. Tage bei gleicher Vorbehandlung mit 4 ccm reinjiziert. Nach 5 Minuten trat ein äußerst schwerer Schock auf, der nach 10 Minuten abklang. Das Tier, das gravid war, starb in der Nacht.

Bei beiden Tieren enthielten die völlig normalen Lebern keine d. Z.

Meerschweinchen 11 wurde ebenfalls mit 0,2 ccm Eiereiweiß sensibilisiert, hungerte aber vom 25.—29. Tage, wo die Reinjektion vorgenommen wurde. Der Schock trat sofort ein; nach 2 Stunden wurde das Tier getötet. Die Leber war makroskopisch normal, mikroskopisch war durch die Hungerwirkung eine zentral im Acinus sitzende regressive Veränderung der Zellen festzustellen, in der Peripherie aber nicht, wohl aber eine teilweise großblasige Verfettung. In dieser Zone fanden sich nun auch d. Z., doch in einer Zahl, die nicht ganz den Erwartungen

entsprach, die wir von der Hungerwirkung + anaphylaktischen Belastung vermuteten.

Zusammenfassend kann als Ergebnis der Anaphylaxieversuche festgestellt werden, daß hierdurch keine anatomisch greifbaren Veränderungen in der Leber hervorgerufen werden. Die Überschwemmung des Körpers mit Eiweißspaltprodukten führt also keineswegs zum Auftreten d. Z. Wir versuchten dieses Ergebnis noch durch einen Histaminversuch zu ergänzen, da der anaphylaktische Schock ja vielfach als Histaminwirkung angesehen wird.

Tier 8, ein Meerschweinchen, wurde subcutan dreimal in 8 Tagen mit 1 mg Histamin injiziert, eine Dosis, die ohne bemerkbare Reaktion ertragen wurde. Die Tötung des Tieres erfolgte 1 Stunde nach der letzten Injektion. Die Leber war völlig normal, d. Z. fehlten völlig.

Wenn man die bisherigen Beeinflussungsversuche bezüglich des Auftretens der d. Z. kennzeichnen soll, so kann man sagen, daß sie sich stark an physiologische Mechanismen angelehnt haben, so daß man eine möglichst funktionelle Einwirkung erwarten konnte.

Es ist nun notwendig, auch die direkt schädlichen Einwirkungen auf die Leber, die hepatotropen Lebergifte, für das Problem der Entstehung der d. Z. heranzuziehen, besonders da — wie eingangs erwähnt — im Schrifttum teilweise die Meinung besteht, daß man in den d. Z. stets den Ausdruck rein degenerativer Vorgänge vor sich habe. Wenn dies der Fall ist, so müssen hepatotrope Lebergifte in besonderem Maße zur Entstehung d. Z. führen.

h) Einwirkung hepatroper Gifte für die Entstehung d. Z.

Daß der gelbe Phosphor in besonders spezifischer Weise auf die Leber einwirkt, ist lange bekannt. Wir beschlossen daher ihn in öliger Lösung anzuwenden. Weiter haben wir (1) neuerdings kennengelernt, daß die seltenen Erden, darunter vornehmlich das Lanthan, schwere spezifische Leberveränderungen hervorruft. Daher wählten wir auch diesen Stoff zur Klärung unserer Frage.

Den Lanthanversuchen dienten zwei Tiere. Kaninchen 17 erhielt intravenös am 1. Tag pro Kilo 40 mg Lanthanion als Nitrat. Am 2. Tag betrug der Gewichtsverlust 6%, am 3. Tag 5%. Das Tier erholte sich sichtlich von der Wirkung der Injektion und wurde daher getötet mit 3% Gewichtszunahme gegenüber dem Ausgangsgewicht. Die Leber war makroskopisch nicht verändert. Wir wissen aus unseren früheren Versuchen, daß sich ausgeprägte Regenerationserscheinungen in der Leber mit massenhaften Mitosen gleichzeitig mit der Erholung sehr rasch

ausbilden. D. Z. sind aber nur in sehr geringer Anzahl im Leberparenchym vorhanden, soch sind sie atypisch und neigen entschieden zu Degeneration; andererseits findet man auch »keimende« d. Z. mit tadellosem Kern. Wir wissen aus unseren Versuchen, daß die Lanthanwirkung auch die Neoglykogenie lähmt. Wir müssen daher in der Beurteilung des Auftretens d. Z. unter diesen Bedingungen besonders vorsichtig sein. Vor allem hatten wir den Eindruck, daß die gewählte Lanthandosis für die Ausbildung schwerer Schäden zu gering war.

Kaninchen 21 erhielt daher 60 mg Lanthanion pro Kilo intravenös. Sein Befinden war entschieden gestört. Das Tier wird am 3. Tag bei 11% Gewichtsverlust getötet. In der makroskopisch etwas blaß aussehenden Leber finden sich im mikroskopischen Schnitt noch keine Nekrosen der Zellen im Zentrum der Acini. D. Z. finden sich sehr vereinzelt, sie sind aber mit Pigment erfüllt und nicht mit Sicherheit als typische d. Z. anzusprechen, weil wir von früheren Lanthanversuchen wissen, daß dabei Leberzellen zusammensintern und dann schwer von den bisher beschriebenen d. Z. zu trennen sind. Auch färbten sich einzelne dieser Zellen nach unspezifischen Färbemethoden. Von einem Masse-, ja selbst nur wenig vermehrtem Auftreten von d. Z. ist aber in beiden Versuchen nichts mit Sicherheit zu finden. Insofern ist die Antwort, die unsere Experimente geben, eindeutig.

Wir wollten aber in einem dritten Fall mit Lanthananwendung entscheiden, wie sich typisch d. Z. einer akuten Lanthanwirkung gegenüber verhalten. Zu diesem Zwecke erzeugten wir in der Leber des Kaninchens 30 durch Hunger mit den kleinen, von der Versuchen 15, 16, 18, 31 bekannten Dosen intravenöser Traubenzuckerzufuhr zahlreiche d. Z., dann wurde eine kurze Nachfütterung mit 50 g Hafer angeschlossen, weil selbst kleine Dosen Lanthan bei sehr glykogenarmen Lebern akut tödlich wirken können. Das Tier erhielt noch bei 31% Gewichtsverlust 40 mg Lanthanion pro Kilo intravenös und wurde am nächsten Tage getötet.

In der Leber finden sich noch viele d. Z., teilweise auch in Zeilenform. Keimende Zellen finden sich nicht. Alle d. Z. sind in diesem Falle aber deutlich bis schwerst degeneriert. Viele von ihnen enthalten auch noch ein gelbliches Pigment, das bei unspezifischen Färbemethoden zu sehen ist. Ob und inwieweit dieses Pigment ebenfalls auf unsere Färbemethode anspricht, können wir noch nicht entscheiden, da wir weder die Art des Pigments näher feststellen konnten, noch ein Untersuchungsgut besitzen, das groß genug ist, um zu bindenden Schlüssen darüber zu kommen.

Eine Wirkung akut schwer schädigender Lanthandosen auf die Entstehung d. Z. ist nach diesen Versuchen abzulehnen, auf vorhandene d. Z. wirken solche Lanthandosen aber im Sinne einer ausgesprochenen Degeneration.

Das erste mit Phosphor (P) behandelte Tier Nr. 24 muß aus unseren Betrachtungen leider ausscheiden, da es sich bei der Obduktion herausstellte, daß das Tier ein doppelseitiges Empyem mit Ergriffensein der Lungen hatte. Die Veränderungen in der Leber sind daher nicht allein auf die P-Wirkung zu beziehen. Immerhin mag festgestellt sein, daß in diesem Falle keinerlei Vermehrung der d. Z. trotz sonstiger schwerer Leberveränderungen zu finden war.

Um so interessanter und wichtiger wurde der P-Versuch beim zweiten P-Tier, weshalb wir auch das Protokoll Nr. 28 ausführlicher gehalten haben. Der in Öl gelöste P wurde subcutan verabfolgt. Bei der guten Futteraufnahme blieb das P-Öl aber offenbar länger als Depot liegen, so daß der P nicht sicher zur Wirkung kommen konnte, denn das Gewicht stieg beträchtlich an. Wir schalteten daher eine 48stündige Hungerperiode ein. Gewichtsverlust 12%. Dann wieder Fütterung mit Gewichtszunahme. Nun gingen wir zu höheren Gaben P über. Wieder Hunger. Hierbei kam es zu Hypoglykämie (siehe Protokoll). Unmittelbar nach Beseitigung des hypoglykämischen Zustandes wurde das Tier getötet. Es bestand jetzt ein Gewichtsverlust von 12% gegenüber dem Anfangsgewicht.

Im allgemeinen kann man sagen, daß die Leber schwer geschädigt ist, am wenigsten die Bezirke um die Zentralvene, dann folgt eine intermediäre, besonders schwer geschädigte Zone, die Peripherie des Acinus ist wieder besser erhalten. Ikterus bestand nicht, auch keine Gallenablagerungen im Lebergewebe. Man hat es also nach sonstigen Erfahrungen bei P-Vergiftung mit einem leichteren Falle zu tun. D. Z. finden sich nun zahlreich in der intermediären und peripheren Acinuszone. Sie zeigen aber fast alle schwere bis schwerste Degenerationszeichen. Vor allem enthalten sie massenhaft Fett. Die Kerne sind ausgesprochen pyknotisch, die Zellen sind mehr oder minder stark verkleinert. Interessant ist es, daß sich in dieser Leber auch Zellen mit ausgesprochener Karyorrhexis befinden. Doch fanden wir keine einzige d. Z. mit Karyorrhexis!

Dieser Versuch scheint nun auf den ersten Blick unseren ganzen bisherigen Beobachtungen zu widersprechen, weil es hier doch zu einer ausgesprochenen Vermehrung von d. Z. unter der Wirkung eines hepatotropen Giftes gekommen ist. Die P-Wirkung war aber im Anfang des

Versuches so gering, daß trotzdem eine beträchtliche Gewichtszunahme erfolgen konnte, die erst auf Einschaltung von Hungertagen durch Mobilisierung der P-Öldepots sich in einem stärkeren Gewichtsverlust ausdrückte, der aber bei Wiederfütterung sofort einem Gewichtsanstieg Platz machte. Erst auf die Anwendung höherer P-Dosen mit gleichzeitigem Hunger kam es zu einem schweren Gewichtsverlust und zur Hypoglykämie, woraus sich mit Sicherheit ein ausgesprochener Kohlehydratmangel in der Leber ergibt. Es kann kaum zweifelhaft sein, daß dieser die erste Ursache des Auftretens großer Mengen d. Z. war, die aber nun unter der späteren starken P-Wirkung sofort degenerierten, genau so wie in unserem Hunger-Lanthanversuch Nr. 30.

Hepatotrope Gifte und Schädlichkeiten wirken demnach auf die Entstehung der d. Z. nur dann ein, wenn sie nicht zu massiv sind. Am wahrscheinlichsten ist es uns aber, daß sie über eine funktionelle Umstellung der Lebertätigkeit im Sinne der notwendigen Neoglykogenie wirken, was im vorliegenden Falle zufällig besonders deutlich zum Ausdruck gekommen ist.

Hiermit sind unsere experimentellen Beeinflussungsversuche für die Erkenntnis über das Auftreten der d. Z. vorläufig abgeschlossen, und es erübrigt sich noch die nötigen Schlußfolgerungen aus den Ergebnissen zu ziehen.

III. Schlußfolgerungen.

Überblickt man nun die ganze Versuchsreihe, so läßt sich namentlich schön an Hand der Tabelle und speziell beim Verfolgen der Spalte über das Vorkommen der »keimenden Zellen« zeigen, daß mit einem sicheren Auftreten d. Z. nur dann zu rechnen ist, wenn man die Leberfunktion bei Mangel an Kohlehydrat stärker beansprucht. Man kann direkt sagen, daß das Auftreten d. Z. mit der Umstellung der Leberfunktion zur Neoglykogenie zu tun hat. Das kann aber nicht so aufgefaßt werden, daß nun diese Zellen allein die Neoglykogenie übernehmen würden. Dazu ist allein schon ihre Anzahl zu gering. Dagegen ist die Auffassung nicht abweisbar, daß diese Zellen im Dienste der Leberregeneration stehen. Es gibt in der Pathologie ein gutes Beispiel, wo ein Organ auf erhöhte funktionelle Beanspruchung infolge Mangels eines notwendigen Ernährungsstoffes mit Zellneubildung antwortet, nämlich das Blut mit Neubildung von Erythrocyten bei Mangel an Sauerstoff in großen Höhen (12). Bei längerem Verweilen in sehr hoher Gebirgsgegend mit erheblicher Verminderung des Partialdruckes des Sauerstoffes tritt eine erhebliche Vermehrung der Zahl der roten Blutkörperchen in der Raum-

einheit ein. Weiterhin ist es äußerst wahrscheinlich, daß die Schilddrüse in Form der Struma parenchymatosa eine Vermehrung ihres Parenchyms erfährt, wenn sie mit der Nahrung zu wenig Jod erhält, weil eine völlige Rückbildung dieser Vergrößerung auf genügende Jodzufuhr erfolgen kann. Wir haben die Gründe dargelegt, die uns namentlich bei den Hungerversuchen den Gedanken einer überstürzten Regeneration der Leberzellen fassen ließ. Erinnern wir uns daran, daß eine überstürzte Blutregeneration auch zum Auftreten atypischer roter Blutkörperchen, wie der Reticulocyten, Erythroblasten und Megaloblasten führen kann, so wird es weniger abwegig erscheinen im Auftreten der d. Z., die von der sonstigen Struktur der Leberzellen abweichen, nicht degenerative Elemente zu sehen, woran man zuerst denken muß, sondern progressive.

Wenn weiter die in der Leber so häufige Zweikernigkeit der Leberzellen als Arbeitsverstärkung der Leber aufgefaßt wird, so ist die besonders häufige Zweikernigkeit der d. Z. sicher in gleicher Weise zu deuten. Diese Vorstellung ist aber mit der Auffassung rein regressiver Vorgänge absolut unvereinbar und die verschiedene Färbbarkeit zweier Kerne in der gleichen Zelle ist es ebenfalls nicht, wie schon ausführlich hervorgehoben.

Vom rein morphologischen Gesichtspunkt muß aber noch darauf hingewiesen werden, daß bei gleichzeitigem Vorhandensein von schwereren und leichteren Degenerationszonen in der gleichen Leber, die d. Z. immer in den weniger degenerierten Abschnitten liegen. Das kann unbedingt nicht für eine primär rein degenerative Veranlassung des Auftretens d. Z. ins Feld geführt werden. Ferner aber auch nicht die Tatsache, daß unter sonstigen deutlichen Degenerationserscheinungen an d. Z. von uns nie eine Karyorrhexis beobachtet werden konnte, auch wenn Karyorrhexis gleichzeitig mit dem Auftreten d. Z. zu finden war.

Verfolgt man aber die einzelnen funktionellen Veranlassungen des Auftretens d. Z., so sind positive und negative Beweise für die Verknüpfung mit der kohlehydratbildenden Funktion der Leber unabweisbar gegeben. Sowohl die Hungerhypoglykämie, wie die durch Adrenalin, Insulin und Leberzellschädigung in die Wege geleitete Zuckerverarmung der Leber ergibt ganz eindeutig positive Befunde für das Auftreten d. Z. Man kann ferner, wenn man die Hervorbringung der d. Z. experimentell beherrscht, durch eine nachherige Spätfütterung mit relativ geringen Kohlehydratmengen die d. Z. mit einer verblüffenden Raschheit zum Verschwinden bringen, was einer Beseitigung der Ursache gleichkommt. Andererseits muß besonders hervorgehoben werden, daß bei großen

Glykogenvorräten keine d. Z. beobachtet werden, und zwar mit einer Regelmäßigkeit, daß man von gegenseitigem Ausschluß der beiden Vorkommnisse sprechen kann. Es fehlt hier die oder wenigstens die Hauptursache des Auftretens der d. Z. Positiver und negativer Beweis ergänzen sich hier bemerkenswert. Weiter aber setzt eine neue schwere Schädlichkeit, die auf eine Leber auftrifft, in der sich d. Z. gebildet haben, deren Neubildung ein sicheres Ende. Sie verfallen nun nahezu alle schwerster Degeneration, nie sieht man unter diesen Umständen die Zeilen- und Nesterbildung d. Z. in unserem Sinne der »keimenden Zellen« mit gut erhaltenem Kern und relativ weniger dunkler Färbung. Also auch hier der deutliche Gegensatz zwischen noch in funktionell möglichen Grenzen sich haltender Beeinflussung und direkter Giftwirkung, die sicher auch das Neubildungsvermögen von Zellen stören dürfte.

Daß die d. Z. nichts mit der Blutmauserung, der Gallenbildung, der Lipoidverarbeitung und der Verabreichung erhöhter Mengen von zirkulierendem Eiweiß zu tun haben, ging aus den entsprechenden Versuchen einwandfrei hervor.

Daß fernerhin die d. Z. keine ruhenden Zellen sind, als die sie noch im Schrifttum bezeichnet wurden, braucht kaum hervorgehoben werden.

Unsere Versuche sind nun nicht ausgedehnt genug, um mit Bestimmtheit sagen zu können, daß die d. Z. stets der Ausdruck progressiver Vorgänge seien. Es wurde schon eingangs hervorgehoben, daß die d. Z. eine Form der Degeneration der Leberzelle sein kann. Wenn es nach unseren Versuchen auch sehr wahrscheinlich ist, daß degenerierende d. Z. nur dann in Erscheinung treten, wenn erhebliche auch sonst bemerkbare degenerative Einflüsse vorhanden sind und es gerade auch unter diesen Umständen gar nicht verwunderlich ist, daß zarte neugebildete und noch nicht voll funktionell ausgereifte Zellen solchen Schäden unter den üblichen Degenerationserscheinungen, z. B. auch unter Verfettung, unterliegen, so haben wir doch selbst die Frage aufgeworfen, ob die d. Z. nicht etwa ein Ausdruck der normalen Leberzellmauserung sein könnten. Als Regel glauben wir aber diese Annahme aus den Ergebnissen unserer Versuche ablehnen zu können. Eine Möglichkeit bliebe aber noch zu erwägen, nämlich die, daß wenn die funktionelle Stoffwechsellage in Wegfall kommt, die zum Auftreten der d. Z. geführt hat, die überstürzt gebildeten d. Z. nicht die Vollreife erleben, sondern degenerativ zugrunde gehen. Bei dem steten großen Wechsel funktioneller Beanspruchung der Leber könnten solche Möglichkeiten vielleicht häufiger bestehen als sie in unseren Versuchen zum Ausdruck kommen konnten.

Wir haben in der Einleitung die Frage nach der diagnostischen und funktionellen Bedeutung der d. Z. gestellt.

Wir glauben sie nach dem Ausfall unserer Versuche dahin beantworten zu können, daß d. Z. in der Leber der Ausdruck progressiver Vorgänge sind, hervorgerufen durch eine funktionelle Stoffwechsellage der Leber, die hauptsächlich dann gegeben ist, wenn die Leber zur Neoglykogenie gezwungen ist, und daß somit als diagnostische Bedeutung der d. Z. ein Zustand erhöhter Funktionsbeanspruchung der Leber zu gelten hat. Dagegen können auch aus unseren Versuchen keine Beweise für eine mögliche funktionelle Verschiedenheit der einzelnen Leberparenchymzellen abgeleitet werden. Wir müssen im Gegenteil erneut feststellen, daß jede Leberparenchymzelle in der Lage ist, das Wunder der zahllosen Stoffwechselaufgaben zu bewältigen.

Zusammenfassung.

1. Die dunklen Leberzellen sind Leberparenchymzellen, deren Protoplasma und Kern sich mit spezifischen Färbemethoden dunkler färben als die übrigen Parenchymzellen. Sie kommen meist nur in geringer Zahl vor.

2. Es werden neue Methoden zur färberischen Darstellung der dunklen Zellen angegeben.

3. Die dunklen Zellen finden sich als Einzelzellen über den Acinus verstreut und als sogenannte Tangentialzellen um die bindegewebigen Umhüllungen der großen Gefäße und der Gallengänge. Dunkle Zellen kommen gelegentlich auch in Zeilen- und Nesterformen vor.

4. Die dunklen Zellen sind in der Regel kleiner als die Leberparenchymzellen und machen häufig einen geschrumpften, wie degenerierten Eindruck. Ihr Kern ist meist sehr dunkel gefärbt und nicht selten entrundet (Pyknose?). In der Regel sind dunkle Zellen zweikernig. Namentlich in den Zeilen- und Nesterformen finden sich aber öfter dunkle Zellen mit normalem Kern und nicht mehr so dunklem Protoplasma. Diese Zellen zeigen keinerlei regressive Erscheinungen, sondern machen den Eindruck von proliferierenden Zellen. In der gleichen dunklen Zelle kann ein normaler und ein dunkler Kern vorkommen.

5. Das Auftreten der dunklen Zellen in der Leber ist an bestimmte Funktionszustände dieses Organs gebunden. Sie treten namentlich dann auf, wenn die Leberfunktion eine Neoglykogenie erfordert. Glykogen- bzw. Traubenzuckermangel der Leber ist daher die Hauptursache für ihr Auftreten, was an zahlreichen Experimenten nach-

gewiesen wird. Bei großem Glykogenreichtum der Leber treten die dunklen Zellen nicht auf.

6. Die dunklen Zellen haben nichts mit Gallenbildung, Blutbildung, erhöhtem Eiweiß- oder Lipoidumsatz zu tun, was durch spezielle Beanspruchung dieser Tätigkeiten der Leber festgestellt wurde.

7. Die dunklen Zellen sind höchstwahrscheinlich der Ausdruck proliferativer Vorgänge in der Leber im Sinne einer Zellneubildung bei funktioneller Überbeanspruchung der Lebertätigkeit.

8. Dunkle Zellen können natürlich auch durch Degeneration zugrunde gehen, namentlich dann, wenn auf eine funktionell überbeanspruchte Leber erneute Schädlichkeiten wirken. Damit wird erklärlich, daß die dunklen Zellen häufig auch bei Einwirkung von Schädlichkeiten auf die Leber zu finden sind.

Nach Abschluß dieser Arbeit erschien eine Mitteilung von Scharrer (13), in der die Meinung vertreten wird, daß die dunklen Zellen der Leber und bestimmter Teile des Gehirns Kunstprodukte seien, weil die dunklen Zellen sich nach Durchströmung der Leber und des Gehirns mit Normalsalzlösung (normal saline) färberisch nicht mehr darstellen ließen. Dunkle Zellen wären Kunstprodukte, die dadurch hervorgebracht würden, daß an den Organen bei der Herausnahme aus dem Tier Zerrungen oder Quetschungen entstünden, welche die Zellen verletzten. Diese Auffassung kann für die Leber bestimmt als unrichtig bezeichnet werden, für das Gehirn fehlen uns eigene Erfahrungen. Es ist nämlich nicht einzusehen, warum dunkle Zellen nicht in allen Organen aufzufinden sind, die gezerrt oder gedrückt werden, was in geringem Grade stets bei der Herausnahme der Organe geschieht, sondern nur bei der Leber und in bestimmten Gehirnteilen. Wie es nach der Zerrungstheorie Scharrers zu erklären ist, daß einzelne dunkle Zellen ganz isoliert zwischen sonst völlig normalen Zellen auftreten können, ist ebenfalls unersichtlich. Noch weniger ist es zu verstehen, warum die Kerne in den dunklen Zellen teils normal, teils pyknotisch erscheinen, und zwar öfter in ein und derselben Zelle, oder warum glygogenreiche Lebern nie dunkle Zellen enthalten, sehr glygogenarme aber regelmäßig.

Vor allem ist aber darauf hinzuweisen, daß die spezifische Färbbarkeit der dunklen Zellen durch die Einwirkung verschiedener Reagenzien aufgehoben werden kann, so z. B. durch die Einwirkung von Salzsäure-Alkohol.

Obwohl schon die angeführten Gründe genügen dürften, Scharrers Ansichten zu widerlegen, so werden wir doch bei Gelegenheit diesen Fragen in besonderen Untersuchungen nachgehen.

Schrifttum.

1. **Fischler, F. und Roeckl, K. W.:** Arch. exp. Pathol. **189**, 4 (1938). — 2. **Clara, M.:** Z. mikrosk.-anat. Forsch. **31**, 193 (1932) (Dort Schrifttum bis 1932). — 3. **Münzer, E.:** Experiment. Studien über die Zweikernigkeit der Leberzellen. Arch. mikr. Anat. **104**, 138 (1925). — 4. **Heinrichsdorff:** Zur Histogenese des Ikterus. Virchows Arch. **248** (1924). — 5. **Holmer, A. J. M.:** Dissertation. Utrecht 1927. — 6. **Ravenna, P.:** Sulla morfologia della cellula epatica in rapporto alla secrezione biliare. Atti Soc. med.-chir. Padua 1931. — 7. Derselbe: Z. Zellforsch. **15** (1932). — 8. **Clara, M.:** l. c. — 9. **Stadelmann, E.:** Der Ikterus. Encke 1891. — 10. **Fischler, F.:** Physiologie und Pathologie der Leber. II. Aufl. J. Springer, Berlin 1925. — 11. **Fischler, F.:** Über das Auftreten herdförmiger Nekrosen usw. Ziegler Beitr. **77**, 217 (1927). — 12. **Fischler, F.:** Die Ernährung **1**, 119 (1936). — 13. **Scharrer, E.:** On dark and light cells in the brain and in the liver. Anat. Rec. **72**, 53 (1938).

Printed in Germany

Lebenslauf

Am 27. März 1915 wurde ich als Sohn des Volksschullehrers Kurt Roeckl und dessen Ehefrau Betti, geb. Mitke in München geboren. Nach 4 jährigem Besuch der Volksschule trat ich 1925 in das Neue Realgymnasium zu München ein und erhielt dort nach 9 jährigem Besuch im Februar 1934 das Zeugnis der Reife. Noch im selben Jahr trat ich dann auf ein halbes Jahr in den freiwilligen Arbeitsdienst, Lager II/305 ein. Meinen vorklinischen Studien oblag ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, wo ich auch im Oktober 1935 das Vorphysikum ablegte. Die klinischen Studien beschloss ich im Sommer 1939, nachdem ich in den Jahren 1936 bis 1939 in der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, München gearbeitet hatte.